

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana Peharda

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Biljna proizvodnja

METODE ISTRAŽIVANJA ALELOPATSKOG UTJECAJA

Diplomski rad

Osijek, 2017.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana Peharda

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Biljna Proizvodnja

METODE ISTRAŽIVANJA ALELOPATSKOG UTJECAJA

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. dr. sc. Marija Ravlić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Renata Baličević, mentor
3. izv. prof. dr. sc. Anita Liška, član

Osijek, 2017.

Sadržaj

1.	Uvod.....	1
2.	Alelopatske interakcije među biljnim vrstama.....	3
2.1.	Odnosi među korovima i usjevima.....	3
2.1.1.	Utjecaj korova na usjeve.....	3
2.1.2.	Utjecaj usjeva na korove.....	5
2.2.	Utjecaj usjeva na usjeve.....	6
2.3.	Utjecaj korova na korove.....	7
2.4.	Autotoksičnost.....	8
2.5.	Alelopatske interakcije algi, mahovina, paprati i golosjemenjača.....	8
3.	Metode istraživanja alelopatije.....	10
3.1.	Općenite pripreme za pokus.....	10
3.1.1.	Biljka donor.....	10
3.1.2.	Biljka receptor (primatelj, test vrsta).....	10
3.1.3.	Gustoća biljaka u pokusu (density dependant tests) i doza/koncentracija.....	11
3.1.4.	Prikupljanje biljnog materijala i uzoraka tla.....	12
3.2.	Pokusi u kontroliranim uvjetima.....	13
3.2.1.	Pokusi na umjetnim podlogama.....	13
3.2.1.1.	Ekstrakti biljaka / tla.....	13
3.2.1.2.	„Dish pack“ metoda.....	15
3.2.1.3.	Esencijalna ulja.....	16
3.2.1.4.	„Sandwich“ metoda.....	16
3.2.1.5.	Interakcije među sjemenom - zajedničko klijanje sjemenja.....	18
3.2.1.6.	Metode za istraživanje korijenovih eksudata kod interakcija među klijancima.....	18
3.2.1.7.	Hidroponski testovi.....	19
3.2.2.	Pokusi u tlu.....	20
3.2.2.1.	Ekstrakti biljaka.....	20
3.2.2.2.	Biljni ostatci (rezidue)	21
3.2.2.3.	Rezidualna toksičnost tla i utjecaj korijenovih eksudata.....	21

3.2.2.4.	Interakcije među sjemenom i klijancima u tlu.....	22
3.2.2.5.	Testiranje genotipova.....	22
3.3.	Poljski pokusi.....	22
3.4.	Mjerenje parametara.....	23
4.	Prednosti i nedostaci.....	26
5.	Zaključak.....	28
6.	Popis literature.....	29
7.	Sažetak.....	41
8.	Summary.....	42
Temeljna dokumentacijska kartica		
Basic documentation card		

1. Uvod

Fenomen alelopatije među biljnim vrstama poznat je više od 2000 godina, no pojam je prvi put uveo 1937. Molisch kao pojavu štetnog djelovanja jedne biljne vrste na drugu (Rice, 1984., Rizvi i sur., 1992.). Danas je alelopatija definirana kao izravan ili neizravan, koristan ili štetan utjecaj jedne biljke, gljive ili mikroorganizma na rast i razvoj drugog putem kemijskih tvari (alelokemikalija) koje se na različite načine izlučuju u okoliš (Rice, 1984., Narwal i sur., 2005.). Prisutnost alelokemikalija utvrđena je u svim biljnim dijelovima, korijenu i rizomima, stabljici, listovima, cvjetovima, cvatu, polenu, plodu i sjemenu (Rice, 1984.). Alelokemikalije se u biljkama nalaze u obliku vodotopljivih glikozida, polimera, alkaloida, tanina, fenola, terpenoida i drugih spojeva, većinom sekundarnih metabolita, koji nemaju štetan utjecaj za samu biljku, ali se po otpuštanju u okoliš degradiraju i transformiraju te mogu postati toksične za druge biljke pa i jedinke iste vrste (Narwal i sur., 2005.). Načini otpuštanja alelokemikalija u okoliš obuhvaćaju ispiranje iz biljnih dijelova, volatizaciju isparljivih spojeva, dekompoziciju (razgradnju) biljnih ostataka te izlučivanje korijenovih eksudata (Dayan i sur., 2000., Narwal i sur., 2005.). Ispuštene u okoliš alelokemikalije mogu biti usvojene od strane biljaka, adsorbirane u tlo, transformirane ili razgrađene od strane mikroorganizama, degradirane pod utjecajem sunčeve svjetlosti ili isprane iz tla (Lalljee i Facknath, 2000., Narwal i sur., 2005.). Količina i otpuštanje alelokemikalija ovisi o biotičkim i abiotičkim čimbenicima kao što su sunčeva radijacija, suša odnosno nedostatak vode, temperatura, nedostatak hraniva, kompeticija te napad kukaca i patogena (Einhellig, 1996., Narwal i sur., 2005.). Izloženost osjetljivih biljaka alelokemikalijama uzrokuje različite promjene, među kojima su najznačajnije morfološke u vidu inhibitornog utjecaja na klijavost sjemena i duljinu korijena i klijanaca, pojavu nekroze glavnog korijena i rast bočnog korijenja, te smanjenje akumulacije suhe mase (Rice, 1984., Dayan i sur., 2000., Kruse i sur., 2000.). Alelokemikalije djeluju na rast biljaka kroz fiziološke procese koji uključuju diobu i elongaciju stanica, usvajanje minerala, disanje, sintezu proteina, propusnost membrana (Rice, 1984.), hormonsku ravnotežu (Dayan i sur., 2000.) i disrupciju stanične stijenke (Liu i Lovett, 1993.).

Alelopatske interakcije odvijaju se među biljnim vrstama u prirodnim sustavima te u agroekosustavima (Chou, 1999., Singh i sur., 2001., Chon i Nelson, 2010.). Alelopatija ima značajnu ulogu u poljoprivredi među usjevima, među usjevima i korovima (Narwal i sur., 2005.), ali u zaštiti usjeva odnosno kontroli korova, štetnika i bolesti (Chon i Nelson,

2010.). Ciljevi istraživanja alelopatije obuhvaćaju procjenu alelopatskog djelovanja značajnih korovnih vrsta radi boljeg poznavanja njihove biologije (Ravlić, 2015.), interakciju među usjevima radi primjene u plodoredu odnosno kao združeni usjevi, te poboljšanje rasta usjeva primjenom pozitivne alelopatije (Narwal i sur., 2005.). Mogućnost primjene alelopatije u zaštiti bilja je kroz biološku kontrolu korova zelenom gnojdbom, malčiranjem i slično, poboljšanjem alelopatskog potencijala usjeva oplemenjivanjem, te razvojem novih herbicida izolacijom, identifikacijom i sintezom alelokemikalija (Wu i sur., 1999., Kruse i sur., 2000., Narwal i sur., 2005.).

Istraživanja na području alelopatije obuhvaćaju laboratorijske pokuse u kontroliranim uvjetima te u polju nizom različitih metoda. Izbor metode ovisi o brojnim čimbenicima i cilju istraživanja, a svaka postojeća ima niz prednosti i nedostataka.

S obzirom na navedeno cilj rada je:

- dati pregled alelopatskih interakcija među višim biljkama, s naglaskom na interakcije u agroekosustavima;
- navesti metode koje se koriste u utvrđivanju alelopatskog utjecaja;
- usporediti metode te navesti njihove prednosti i nedostatke.

2. Alelopatske interakcije među biljnim vrstama

Alelopatske interakcije utječu na bioraznolikost, distribuciju biljnih vrsta, formiranje biljnih zajednica i sukcesiju vrsta u prirodnim ekosustavima (Chou, 1999., Zhang i sur., 2004.). Značaj alelopatije vidljiv je i u agroekosustavima gdje alelokemikalije utječu na klijavost sjemena, rast klijanaca i prinos usjeva te sastav korovne flore (Chou, 1999., Singh i sur., 2001., Chon i Nelson, 2010.). Alelopatske interakcije mogu se odvijati između korova i usjeva, između usjeva te između korova (Alam i sur., 2001., Chon i Nelson, 2010.).

2.1. Odnosi među korovima i usjevima

2.1.1. Utjecaj korova na usjeve

Korovi negativno utječu na usjeve kompeticijom za svjetlo, vodu, prostor i hraniva, ali i alelopatijom. Alelokemikalije oslobođene iz biljnih ostataka, korijenovih eksudata, volatizacijom te pri klijanju sjemena korovnih vrsta mogu djelovati negativno na klijanje i rast usjeva ili ometati usvajanje hraniva (Narwal i sur., 2005.).

Alelopatski utjecaj korovnih vrsta na usjeve predmet je brojnih istraživanja. Utvrđeno je pozitivno i negativno djelovanje korova na sjeme žitarica, okopavina, industrijskog i krmnog bilja, povrća i drugih usjeva.

Alelopatski utjecaj vodenih ekstrakata, biljnih ostataka i sjemena korova strnih žitarica kao što su poljski mak (*Papaver rhoeas* L.), bezmirisna kamilica (*Tripleurospermum inodorum* (L.) C.H. Schultz), poljski osjak (*Cirsium arvense* (L.) Scop.), poljski slak (*Convolvulus arvensis* L.), sofijin oranj (*Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl) i priljepače (*Galium aparine* L.) zabilježen je na ječam, pšenicu, ozimu raž i tritikale (Aziz i sur., 2008., Hegab i Ghareib, 2010., Edrisi i Farahbakhsh, 2011., Kwiecińska-Poppe i sur., 2011., Ravlić i sur., 2013., Ravlić, 2015.).

Utjecaj poljskog slaka na kukuruz bilježe Baličević i sur. (2014.a) prema kojima vodeni ekstrakti od suhe mase stabljike i lista smanjuju klijavost do 36%. Smanjenje klijavosti soje utvrđeno je u pokusima s crnom pomoćnicom (*Solanum nigrum* L. emend Miller) (Marinov-Serafimov, 2010.), običnom zubačom (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) (Verma i Rao, 2006.), kiseličastim dvornikom (*Polygonum persicaria* L.) (Treber i sur., 2015.) i

brojnim drugim. Golubinova i Ilieva (2014.) navode negativan utjecaj vodenih ekstrakata korovnih vrsta na rast i razvoj graška, grahorice i lucerne.

Bezmirisna kamilica, poljski osjak i crna pomoćnica negativno djeluju na klijavost i rast mrkve u Petrijevim zdjelicama i posudama s tlom kao vodeni ekstrakti, ali i kao inkorporirani biljni ostatci (Ravlić, 2015.). Baličević i sur. (2016.) zabilježili su značajno smanjenje klijavosti sjemena i rasta klijanaca salate s vodenim ekstraktima od različitih biljnih dijelova vrsta iz porodice Asteraceae i Polygonaceae.

Vrlo je značajno i alelopatsko djelovanje invazivnih biljnih vrsta među kojima su u hrvatskoj flori značajni Teofrastov mračnjak (*Abutilon theophrasti* Medik.), oštrodlakavi šćir (*Amaranthus retroflexus* L.), ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.), kanadska hudoljetnica (*Conyza canadensis* (L.) Cronquist), bijeli kužnjak (*Datura stramonium* L.), velika zlatnica (*Solidago gigantea* Aiton), divlji sirak (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) te obična dikica (*Xanthium strumarium* L.) (Knežević, 2006.; Nikolić i sur., 2014.).

Balah i Nassar (2011.) su utvrdili smanjenje klijavosti sjemena te duljine korijena i izdanka kukuruza za preko 70% pri primjeni vodenih ekstrakata Teofrastovog mračnjaka u najvišoj koncentraciji. Negativni utjecaj vodenih ekstrakata oštrodlakavog šćira zabilježen je na soju (Marinov-Serafimov, 2010.), luk (Baličević i sur., 2015.a), kupus, bundevu (Qasem, 1995.), kukuruz, lucernu, grah i pšenicu (Bakhshayeshan-Agdam i sur., 2015.). Vodeni ekstrakti od suhe nadzemne mase ambrozije smanjuju klijavost i rast ječma, pšenice, salate, mrkve, bosiljka i soje u Petrijevim zdjelicama, te imaju pozitivni i negativni utjecaj u pokusima s biljnim ostacima navodi Pezerović (2016.). Klijavost i rast rajčice, rotkvice, pšenice, kukuruza, duge vigne i prosa smanjen je u pokusima s vodenim ekstraktima i biljnim ostacima kanadske hudoljetnice (Shaukat i sur., 2003.), dok nadzemna masa bijelog kužnjaka negativno djeluje na klijavost sjemena suncokreta (Pacanoski i sur., 2014.). Vodeni ekstrakti velike zlatnice smanjuju klijavost i rast sjemena mrkve, ječma (Baličević i sur., 2015.b) te heljde (Sekutowski i sur., 2012.). Kadioğlu (2004.) pak navodi da vodeni ekstrakti od obične dikice u pokusima u Petrijevim zdjelicama negativno djeluju na klijavost luka, paprike, rajčice, kukuruza, ječma i drugih vrsta.

Iako je djelovanje korova na usjeve najčešće negativno, zabilježen je i pozitivan utjecaj koji se može iskoristiti u cilju poboljšanja rasta i prinosa (Popa i sur., 2008.). Najpoznatiji, i komercijalno primjenjivi, pozitivni primjer alelopatije je djelovanje agrostemina

izoliranog iz korovne vrste kukolj (*Agrostemma githago* L.) na pšenicu (Gajić i sur., 1972.).

2.1.2. Utjecaj usjeva na korove

Usjevi pozitivno i negativno djeluju na korove putem korijenovih eksudata, biljnih ostataka koji otpuštaju fitotoksine ispiranjem ili dekompozicijom, ili oslobađanjem alelokemikalija tijekom klijanja (Narwal i sur., 2005.). Alelopatski potencijal usjeva, među njima žitarica, industrijskog bilja, vrsta iz porodica Brassicaceae, povrća, aromatičnog i ljekovitog bilja, istražuje se u cilju suzbijanja ili smanjenja nicanja i rasta korovnih vrsta.

Utjecaj vodenih ekstrakata suncokreta, sirka i vrsta iz roda *Brassica* na suzbijanje korova i komponente prinosa pšenice u poljskom pokusu proučavali su Awan i sur. (2012.). Rezultati su pokazali da su sve kombinacije značajno negativno utjecale na broj korova, te njihovu svježiu i suhu masu u odnosu na kontrolu, posebice kombinacija sva tri vodena ekstrakta. Vodeni ekstrakt sirka smanjuje i klijavost i rast korovne vrste *Trianthema portulacastrum* L. (Randhawa i sur., 2002.).

Dhima i sur. (2006.) istraživali su utjecaj strnih žitarica, odnosno ječma, raži i pšenoraži kao pokrovnih usjeva na korovne vrste koštan (*Echinochloa crus-galli* (L.) PB.) i pršljenasti muhar (*Setaria verticillata* (L.) PB.) u kukuruзу te utvrdili smanjenje nicanja korova i do 80% u odnosu na kontrolu. Malčiranje suhim biljnim ostacima sirka, kukuruza, riže i suncokreta ovisno o dozi smanjuje nicanje, duljinu izdanka, suhu masu biljaka i broj sjemenki svjetlice (*Phalaris minor* Retz.) (Abbas i sur., 2016.).

U pokusima Chon i sur. (2005.) inkorporacija listova salate u tlo u dozi od 100 g po kg značajno je smanjila svježiu masu korijena i izdanka koštana za 88% odnosno 79%.

Dikić (2005.a,b) navodi da i sjeme i ekstrakti ljekovitih i aromatičnih vrsta iz porodica Apiaceae i Lamiaceae negativno djeluju na klijavost i masu klijanaca korova. Smanjenje klijavosti odnosno nicanja i rasta korovnih vrsta u tretmanima s aromatičnim i ljekovitim vrstama zabilježili su i Baličević i sur. (2014.b), Baličević i sur. (2015.c), Ravlić (2015.), Ravlić i sur. (2016.), Ravlić i sur. (2014.) u pokusima s nevenom, bosiljkom, matičnjakom, pravom kamilicom, ljupčacem, kaduljom, rutom, komoračem i peršinom. Autori su ispitivali utjecaj zajedničkog klijanja, vodenih ekstrakata u Petrijevim zdjelicama i posudama, i svježih i suhih biljnih ostataka, te u pojedinim tretmanima navode i 100% inhibiciju rasta i klijavosti korovnih vrsta.

Peneva (2007.) navodi da vodeni ekstrakti i inkorporirani prah zrna kave smanjuju nicanje korovne vrste obične dikice, dok prema Nekonom i sur. (2014.) vodeni ekstrakti i biljni ostatci ricinusa (*Ricinus communis* L.) negativno djeluju na klijavost odnosno preživljavanje, suhu masu i visinu klijanaca oštrodлакavog šćira.

U kontroli korova mogu se primijeniti i druge više biljke, samonikle, ljekovite, otrovne ili ukrasne, pa su zabilježeni rezultati alelopatskog djelovanja crnog sljeza (*Malva sylvestris* L.), velikog rosopasa (*Chelidonium majus* L.) (Ravlić, 2015.), dature (*Datura inoxia* Mill.), oleandra (*Nerium oleander* L.) (Nekonom i sur., 2014.), gospine trave (*Hypericum perforatum* L.) (Alipour i sur., 2013.), broća (*Rubia tinctoria* L.) i običnog pelina (*Artemisia vulgaris* L.) (Kadioğlu i Yanar, 2004.).

2.2. Utjecaj usjeva na usjeve

Alelopatske interakcije između usjeva mogu dovesti do problema u proizvodnji i to kod uzgoja u monokulturi, u plodoredu, te kod primjene združenih usjeva i zajedničkom sijanju u smjesama. Koriijenovi eksudati negativno djeluju u monokulturi, te kod zajedničkog sijanja kultura, dok zaoravanje usjeva zbog oslobađanja alelokemikalija može utjecati na idući usjev. Međutim, moguć je i pozitivan utjecaj na rast i prinos usjeva (Narwal i sur., 2005.).

Negativan utjecaj vrsta iz roda *Brassica*, odnosno uljane repice, repe, smeđe gorušice, na suncokret bilježe Jafariehyazdi i Javidfar (2011.), dok su suprotno tome Awan i sur. (2012.) utvrdili da vodeni ekstrakti suncokreta, vrsta roda *Brassica* i sirka stimuliraju rast pšenice te povećavaju prinos i komponente prinosa. U pojedinim tretmanima s vodenim ekstraktima prinos je bio veći i u odnosu na tretman s mehaničkom kontrolom korova. Slično navode i Dhima i sur. (2006.) prema kojima je prinos kukuruza u tretmanu s ječmom kao pokrovnim usjevom bio za 45% viši nego u tretmanu bez ječma i približno jednak u tretmanu s primjenom herbicida.

Bukharov i Baleev (2014.) su prilikom ispitivanja vodenih ekstrakata sjemeni celera, kopra, pastirnjaka i peršina utvrdili njihovo inhibitorno djelovanje na rotkvu, salatu i kineski kupus. Smanjenje klijavosti i rast lucerne pri primjeni vodenih i metanolskih ekstrakata te biljnih ostataka salate navode Chon i sur. (2005.).

Alelopatski utjecaj među travnim i krmnim kulturama istraživala je Đikić (2004.) s obzirom da zajedničko sijanje u smjesama može utjecati na ukupnu produkciju

proizvedene mase. Rezultati pokusa su pokazali negativan utjecaj na broj klijanaca i masu roščićave svinđuše, posebice u tretmanu sa sjemenom crvene djeteline i jare grahorice, dok je s druge strane bijela djetelina imala pozitivan utjecaj na klijavost i masu za 8,8% odnosno 14,4%. Isto tako, masa bijele djeteline bila je pod negativnim utjecajem te je smanjena preko 30% u tretmanima sa sjemenom trstikaste vlasulje, te engleskog i talijanskog ljulja.

Waris i sur. (2016.) bilježe negativan utjecaj vodenih i metanolskih ekstrakata svježeg i korištenog čaja (*Camellia sinensis* L.) na pšenicu i kukuruz. Ekstrakti bosiljka prema Đikić (2004.) negativno utječu na kim smanjujući klijavost sjemena za 19,6%, a masu klijanaca za 35,3%. Autorica je utvrdila i pozitivno djelovanje u tretmanu s ekstraktom komorača koji je povećao masu klijanaca majčine dušice za 28,4% u odnosu na kontrolni tretman.

Pozitivan utjecaj vodenih ekstrakata vrste *Aloe vera* (L.) Burm.f. navode Ravlić i sur. (2017.) i Baličević i sur. (2017.) prema kojima je klijavost matovilca i mrkve povećana do 16,2% odnosno 19%, kao i duljina i izdanka te svježja i suha masa klijanaca bosiljka.

2.3. Utjecaj korova na korove

Alelopatske interakcije odvijaju se i između korova, a posebice invazivne vrste mogu ispoljiti jak alelopatski potencijal (Khanh i sur., 2008.).

Negativan utjecaj ekstrakata obične dikice na klijavost sjemena oštrodлакavog šćira, neplodne zobi (*Avena sterilis* L.) i kovrčave kiselice (*Rumex crispus* L.) zabilježio je Radioğlu (2004.). U pokusima s biljnim ostacima i post-em primjenom ekstrakta obične dikice također je utvrđeno smanjenje nicanja i postotak preživljavanja korovnih vrsta.

Balah i Nassar (2011.) navode negativni utjecaj vodenih i metanolskih ekstrakata Teofrastovog mračnjaka na klijavost i rast korovnih vrsta običnog tušnja (*Portulaca oleracea* L.), koštana i vrste *Corchorus olitorius* L.

Vodeni ekstrakti velike zlatnice u pokusima Baličević i sur. (2015.b) smanjili su klijavost i rast Teofrastovog mračnjaka i oštrodлакavog šćira pri primjeni u Petrijeve zdjelice, dok je u posudama s tlom samo oštrodлакavi šćir pokazao osjetljivost.

Kazinczi i sur. (2013.) u pokusima u posudama pokazali su da ostatci korijenja ciganskog perja (*Asclepias syriaca* L.) povećavaju svježju biomasu korovnih vrsta oštrodлакavi šćir i bijele lobode (*Chenopodium album* L.).

2.4. Autotoksičnost

Autotoksičnost u alelopatiji naziva se i autoalelopatija ili intraspecifična toksičnost, a obuhvaća alelopatske odnose među jedinkama iste vrste (Kumar, 1991.) odnosno kada vrsta proizvodi alelokemikalije koje utječu negativno na klijavost, rast i razvoj jedinki iste vrste (Rice, 1984., Chon i Nelson, 2010.).

Autotoksičnost kod lucerne poseban je specijaliziran oblik alelopatije u kojem jedan ili više kemijskih spojeva starijih biljaka negativno utječu na vlastite klijance. Autotoksične kemikalije u lucerni izlučuju se iz svježe biljne mase, koncentriranije su više u listovima nego u korijenu, vodotopljive su i pokretljive u tlu, odgađaju ili inhibiraju klijavost, uzrokuju nebojenost, kovrčanje i zaostajanje korijena u rastu te nedostatak korijenovih dlačica. Autotoksičnost lucerne utječe na propadanje usjeva i smanjuje naknadan rast. Oko starijih biljaka javlja se autotoksična zona koja sprječava ugušćivanje starijeg nasada, nemoguća je ponovna sjetva lucerne najmanje dvije godine nakon uništavanja starog nasada, te je kod prorijeđenih nasada nemoguće presijavanje kako bi se povećala gustoća nasada (Chon i sur., 2006.).

Đikić (2004.) je istraživala autotoksičnost među aromatičnim i ljekovitim vrstama. Zabilježena je autotoksičnost ekstrakata kima i mirođije na masu klijanaca, ali ne i na klijavost.

2.5. Alelopatske interakcije algi, mahovina, paprati i golosjemenjača

Osim među cvjetnicama, alelopatija je zabilježena među algama, mahovinama, papratima i golosjemenjačama, te može imati utjecaja i značaj u poljoprivredi.

Kemijski spojevi izlučeni iz algi mogu utjecati na vlastiti rast (autotoksičnost), na rast drugih algi, mikroorganizama i viših biljaka u njihovoj blizini, te akumulaciju i dostupnost hraniva. Alelokemikalije izolirane iz algi potencijalan su izvor spojeva koji se mogu iskoristiti u suzbijanju korova i drugih štetnika (Inderjit i Dakshini, 1994.). Alge također mogu djelovati pozitivno, pa Singh i Chaudhary (2011.) navode da metanolski ekstrakti vrste *Pithophora oedogonia* (Mont.) Wittrock povećavaju klijavost i rast korijena i izdanka klijanaca riže za preko 40%, 140% odnosno 50% s najvišom istraživanom koncentracijom.

Mahovine formiraju vrlo velike čiste kolonije na tlu i na stijenama te onemogućuju rast drugih biljnih vrsta (Blime, 2001.). Mahovina *Rhynchostegium pallidifolium* (Mitt.) A.

Jaegar u pokusima Kato-Noguchi i Seki (2010.) pokazala je inhibitorno djelovanje na dužinu izdanka i rast korijena sjetvene grbice pri zajedničkom rastu na agru. S povećanjem udaljenosti od mahovine alelopatski utjecaj na sjetvenu grbicu se smanjivao.

Papрати otpuštaju toksične spojeve koji mogu djelovati autotoksično ili na druge biljne vrste te posredstvom alelopatije konkuriraju za okolišne resurse i prostor (Zhang i sur., 2004.). Prema Kato-Noguchi i sur. (2013.) vodeni metanolski ekstrakti vrste *Gleichenia japonica* Spreng. negativno utječu na rast klijanaca sjetvene grbice, mačjeg repka (*Phleum pratense* L.) i višecvjetnog ljlja (*Lolium multiflorum* Lam.), dok izolirane alelokemikalije smanjuju i rast koštana i lucerne.

Golosjemenjače alelopatski djeluju najčešće ispiranjem (i to fenolnih spojeva) iz lišća ili iglica, kore ili biljnih ostataka (Singh i sur., 1999.). Vrste roda *Pinus*, *Taxus* i *Cedrus* posjeduju snažan alelopatski utjecaj na rast i razvoj drugih biljaka u šumskim zajednicama (Teixeira da Silva i sur., 2015.). Hamrouni i sur. (2015.) navode da esencijalno ulje alepskog bora (*Pinus halepensis* Miller) posjeduje antifungalno i herbicidno djelovanje.

3. Metode istraživanja alelopatije

S obzirom da je alelopatija složen ekološki fenomen koji skupa s kompeticijom za resurse i okolišnim čimbenicima utječe na rast biljaka, ne postoje standardi protokoli pri istraživanju alelopatskog potencijala pojedine biljne vrste. Međutim, kod odabira i kreiranja pokusa postoji niz značajnih smjernica koje se trebaju uzeti u obzir (Romeo i Weidenhamer, 1998.).

Alelopatske metode su brojne, a odabir ovisi o cilju proučavanja te načinu otpuštanja alelokemikalija. Općenito se pokusi mogu podijeliti na pokuse u kontroliranim uvjetima i pokuse u polju.

3.1. Općenite pripreme za pokus

3.1.1. Biljka donor

Kao što je već navedeno, odabir biljke donora značajan je ovisno o cilju pokusa odnosno interakciji koja se želi istražiti. Primjerice, alelopatski potencijal može se ispitati ukoliko se uspjeh nekog korova ne može objasniti njegovom kompetitivnom sposobnošću, ukoliko je uočena nemogućnost uspostavljanja usjeva prouzrokovana prisutnošću biljnih ostataka ili se pak želi utvrditi herbicidni potencijal neke biljke ili pojedinog kultivara (Kruse i sur., 2000., Dhima i sur., 2006., Ravlić, 2015.).

3.1.2. Biljka receptor (primatelj, test vrsta)

U pokusima se kao biljke receptori (primatelj, test vrsta) koriste brojne vrste. Preporuka je koristiti onu vrstu koja je povezana s biljkom donorom, bilo da se pojavljuje prirodno uz nju ili je kultivirana s njom, kako bi pokus imao ekološki smislenu ulogu (Romeo i Weidenhamer, 1998., Wu i sur., 2001.).

Primjerice, ukoliko se istražuje alelopatski utjecaj nekog korova kao test vrsta izabire se onaj usjev u kojem se taj korov pojavljuje i čini moguće štete (Aziz i sur., 2008., Marinov-Serafimov, 2010., Kwiecińska-Poppe i sur., 2011., Baličević i sur., 2015.a, Ravlić, 2015.).

Kod invazivnih vrsta kao test vrsta koriste se i usjevi i korovi (Kadioğlu, 2004., Pezerović, 2016., Pacanoski i sur., 2014.) kako bi se proučio njihov utjecaj i na usjeve i na autohtonu floru.

Ukoliko se proučava herbicidni učinak neke biljne vrste kao test vrsta odabiru se korovne vrste (Đikić, 2004., Baličević i sur., 2014.b, Nekonam i sur., 2014., Ravlić, 2015.). Kod ispitivanja herbicidnog učinka istražuje se i alelopatski utjecaj na usjev u kojem se pojavljuju korovi koji se žele suzbiti kako bi se utvrdio ima li biljka donor negativan utjecaj (Norsworthy i sur., 2003., Dhima i sur., 2009., Alipour i sur., 2013., Ravlić i sur., 2015.a).

Vrlo često u pokusima se koriste salata i rotkvica s obzirom na njihovu visoku osjetljivost na alelokemikalije, brzu klijavost, dostupnost i niske troškove (Díaz de Villegas i sur., 2011., Ranagalage i Wathugala, 2016.). Upotreba ovih test vrsta ipak je značajna pri preliminarnom testiranju ili testiranju velikog broja vrsta kako bi se izdvojile one s najvećim potencijalom odnosno bioaktivnim spojevima (Takemura i sur., 2013., Baličević i sur., 2016.), iako u konačnici rezultati ne pokazuju kako biljka donor djeluje na druge ciljane vrste, primjerice korove (Weidenhamer, 2008.).

U pokusu se može kao test vrsta odabrati i više genotipova ili kultivara jednog usjeva, kako bi se utvrdile razlike u njihovoj osjetljivosti (Baličević i sur., 2014.a, Golubinova i Ilieva, 2014., Baličević i sur., 2015.a, Treber i sur., 2015.).

3.1.3. Gustoća biljaka u pokusu (density dependant tests) i doza/koncentracija

Alelopatski utjecaj ovisi o gustoći test (receptor) vrste te gustoći donor vrste odnosno dozi / koncentraciji alelokemikalija koje otpušta donor vrsta (Wu i sur., 2001., Weidenhamer, 2008.).

Fitotoksičnost ovisna o gustoći (density-dependant phytotoxicity) definirana je kao razlika u jačini inhibicije u slučajevima kada biljke rastu pri različitim gustoćama (Weidenhamer i sur., 1989.), a rezultat je činjenice da se biljke „natječu“ za fitotoksine isto kao i za resurse (Weidenhamer, 2008.). Dakle, kod određene konačne količine fitotoksina biljke koje rastu pri manjim gustoćama imaju veću dostupnu količinu fitotoksina po biljci te će biti jače inhibirane nego biljke koje rastu pri većim gustoćama gdje je količina fitotoksina podijeljena među biljkama te svaka biljka usvoji proporcionalno manju dozu (Weidenhamer, 2008.).

Značajan utjecaj ima i gustoća biljke donora odnosno doza / koncentracija alelokemikalija otpuštena iz donor vrste (Wu i sur., 2001.).

Pri povećanju gustoće biljke donora dolazi do otpuštanja veće količine alelokemikalija i time i jačeg utjecaja na test biljku (Weidenhamer, 2008., Amini i sur., 2009.).

Ukoliko se alelokemikalije oslobađaju iz biljnog materijala bilo kao ekstrakti ili dekompozicijom u tlu, koncentracija odnosno doza također imaju velik utjecaj na rast test vrste, pri čemu više koncentracije odnosno doze u pravilu djeluju negativno (Balah i Nassar, 2011., Baličević i sur., 2015a,b, Ravlić, 2015.). Izbor koncentracije odnosno doze u pojedinim je slučajevima puno veći nego što je moguća pojava u prirodi (Marinov-Serafimov, 2010.) pa je uputno testirati veći broj koncentracija. Istraživanje viših koncentracija i doza često je pri testiranju u cilju proučavanja herbicidnog učinka (Caboun i John, 2015.).

3.1.4. Prikupljanje biljnog materijala i uzoraka tla

Biljna masa donor vrste prikuplja se na prirodnom staništu biljke, u usjevima na poljima, na ruderalnim staništima u određenoj fenološkoj fazi (Tanveer i sur., 2010., Jafariehyazdi i Javidfar, 2011., Ravlić, 2015.). Bitno je naznačiti u kojoj se fenološkoj fazi nalazi biljka (Jacob i sur., 2006.) s obzirom da biljke u različitim stadijima razvoja imaju i različitu količinu alelokemikalija (Singh i sur., 2013.).

Prikupljeni biljni materijal potrebno je očistiti od nečistoća i tla, bilo suhim čišćenjem ili kratko kroz vodu koju treba ukloniti nakon toga papirom (Caboun i John, 2015.). Masa biljaka razdvaja se kod istraživanja pojedinih biljnih dijelova te je potrebno naznačiti koji će se biljni dio koristiti (Jacob i sur., 2006., Ravlić, 2015.).

Ukoliko se koristi svježi biljni materijal potrebno ga je upotrijebiti odmah (Caboun i John, 2015.). Za pripremu suhog biljnog materijala biljna masa biljaka suši se na zraku ili u sušioniku (najčešće na temperaturama višim od 50 °C oko 48 h) te se usitnjava i melje u mlinu u prah koji se čuva u papirnatim vrećama (Qasem, 1995., Randhawa i sur., 2002., Alipour i sur., 2013., Ravlić, 2015.).

Pri ispitivanju tla u pokusima se kao uzorak uzima tlo na kojem su rasle jedinke biljke donora i to iz gornjeg sloja do 15 cm. Uzorak tla se suši i prosijava (Chon, 2004., Tanveer i sur., 2010.).

Sjeme korovnih vrsta najčešće se prikuplja na polju, iako ga je moguće i kupiti (Balah i Nassar, 2011., Ravlić, 2015.). S obzirom da sjeme mnogih divljih vrsta posjeduje

dormantnost, radi smanjenja pogreške pri očitavanju klijavosti potrebno je provesti tretmane uklanjanja dormatnosti različitim postupcima (Romeo i Weidenhamer, 1998., Ravlić i sur., 2015.b).

Kod sjemena usjeva potrebno je naznačiti o kojoj se sorti odnosno kultivaru radi (Ravlić, 2015.), posebice ukoliko se istražuju razlike među genotipovima (Verma i Rao, 2006., Baličević i sur., 2014.a, Golubinova i Ilieva, 2014.).

U pokusima se koristi dezinficirano sjeme, kako bi se spriječilo da infekcija patogenima utječe na rezultate (Jacob i sur., 2006.). Za dezinfekciju sjemena koristi se NaOCl (Siddiqui i sur., 2009., Balah i Nassar, 2011.).

S obzirom da svaka metoda ima i svoje dodatne specifičnosti one su uvijek naglašene uz proceduru pokusa.

3.2. Pokusi u kontroliranim uvjetima

Pokusi u kontroliranim uvjetima obuhvaćaju istraživanja u laboratoriju ili u staklenicima gdje su vanjski utjecaji potpuno isključeni. U pokusima se ispituje utjecaj biljne mase ili tla (ekstrakti, biljni ostatci, odnosno među sjemenom itd.) i to na umjetnim podlogama (filter papir, agar, hranjive otopine) ili u tlu odnosno supstratu.

3.2.1. Pokusi na umjetnim podlogama

U pokusima na umjetnim podlogama istražuju se ekstrakti, esencijalna ulja odnosno isparljive komponente, biljna masa, interakcije među sjemenom i klijanjima te korijenovi eksudati.

3.2.1.1. Ekstrakti biljaka / tla

Pokusi s ekstraktima simuliraju oslobađanje alelokemikalija ispiranjem iz biljnog materijala ili tla.

Priprema ekstrakata biljaka podrazumijeva potapanje biljnog materijala (cijele biljke ili pojedinog biljnog dijela) u vodu ili organsko otapalo u zadanom omjeru tijekom određenog vremena, najčešće 24 h. Nakon toga mješavina se filtrira (muslinsko platno/filter papir/sita) kako bi se uklonile grube čestice i dobio ekstrakt (Norsworthy, 2003., Tanveer i sur., 2010., Alipour i sur., 2013., Ravlić, 2015.). Ekstrakti se mogu pripremati od svježe ili suhe biljne mase i to u različitim koncentracijama (Norsworthy, 2003., Marinov-

Serafimov, 2010.). Najčešće se priprema osnovna koncentracija od 10% (100 g biljnog materijala u 1000 ml otapala), a ostale koncentracije se dobivaju razrjeđenjem destiliranom vodom (Norsworthy, 2003., Balah i Nassar, 2011., Ravlić, 2015.).

Ekstrakti tla pripremaju se miješanjem određene količine osušenog tla na kojem su rasle jedinke biljke donora s otapalom, filtriranjem i centrifugiranjem (Chon, 2004.).

Pripremljeni ekstrakti u pravilu se do početka pokusa skladište na hladnome mjestu (Alipour i sur., 2013., Singh i sur., 2013., Ravlić, 2015.). Marinov-Serafimov i Golubinova (2015.) navode da s obzirom da ekstrakti biljaka pogoduju razvoju mikroorganizama koji mogu djelomično utjecati na promjenu pH i pokazati negativan osmotski utjecaj na klijavost i rast vrsta, potrebno je koristiti antimikrobne spojeve. Autori preporučuju timol kao prirodnu antimikrobnu komponentu u koncentracijama od 0,5 i 1‰ jer u odnosu na konvencionalne kemijske konzervanse (natrijev benzoat, kalijev sorbat, salicilna kiselina) ne utječe negativno na klijavost i rast test vrsta.

S obzirom na otapalo razlikujemo:

- a) Vodene ekstrakte
- b) Alkoholne ekstrakte
- c) Metanolske ekstrakte

Vodeni ekstrakti pripremaju se miješanjem biljne mase s destiliranom vodom sobne temperature (Norsworthy, 2003., Balah i Nassar, 2011., Jafariehyazdi i Javidfar, 2011., Ravlić, 2015.). Vodeni ekstrakti mogu se pripremiti i s vrućom vodom (Peneva, 2007., Waris i sur., 2016.).

Alkoholni ekstrakti pripremaju se ekstrakcijom biljne mase etanolom, evaporacijom rotacijskim uparivačem i razrjeđivanjem s destiliranom vodom (Alipour i sur., 2013., Reichel i sur., 2013.).

Priprema metanolskih ekstrakata podrazumijeva miješanje biljne mase s metanolom te sušenje rotacijskim uparivačem, nakon čega se dobivena masa miješa s destiliranom vodom (Hegab i Ghareib, 2010., Sunar i Agar, 2017.).

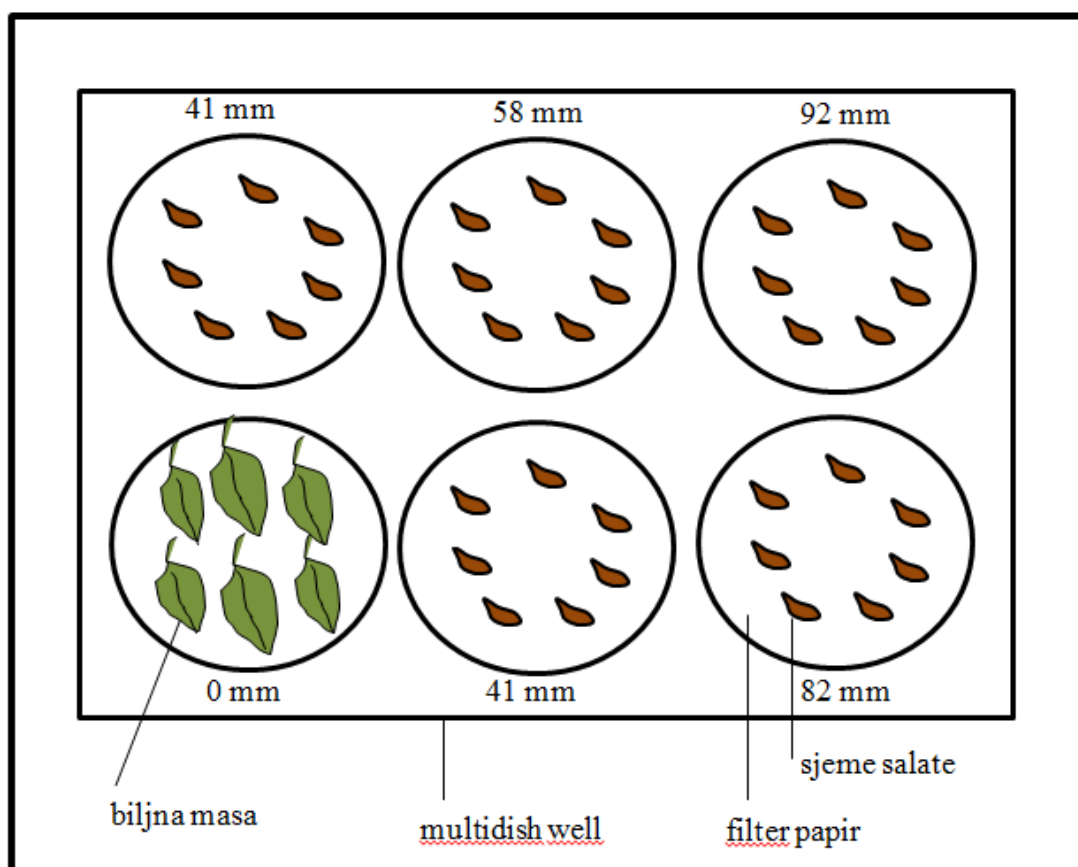
Pokus se sastoji od naklijavanja sjemena test vrste u Petrijevim zdjelicama na podlozi (najčešće filter papir) navlaženoj određenom količinom vodenog ekstrakta. Kao kontrolni tretman uključene su Petrijeve zdjelice sa sjemenom na podlozi navlaženoj destiliranom

vodom. Količina ekstrakta odnosno destilirane vode ovisi o veličini Petrijeve zdjelice, a potrebno je održavati adekvatnu vlažnost kako se klijanci ne bi osušili ili kako ne bi došlo do inhibicije rasta uslijed prevelike količine ekstrakta. Sjeme se naklijava određen broj dana u laboratoriju ili klima komori (Wu i sur., 2001., Alipour i sur., 2013., Caboun i John, 2015., Ravlić, 2015.).

Utjecaj vodenih ekstrakata može se istražiti i naklijavanjem sjemena na agru u koji je umiješan vodeni ekstrakt. U ovom slučaju kontrolu čini naklijavanje sjemena samo na agru (Chon, 2004.).

3.2.1.2. „Dish pack“ metoda

„Dish pack“ metoda koristi se kako bi se istražio alelopatski utjecaj alelokemikalija koje se u okoliš otpuštaju volatilacijom, a osmislili su ju Fujii i sur. (2000.).



Shema 1. Pokus prema „Dish pack“ metodi (shema prema Fujii i sur., 2000.) (izradila: M. Ravlić)

U pokusu dish pack metode koristi se „multidish well“ posuda sa šest udubljenja promjera 3,5 cm (shema 1.). U jedno udubljenje stavlja se 2 grama svježe biljne mase biljke donora, dok se ostala udubljenja oblažu navlaženim filter papirom na koji se postavlja sjeme salate. Udaljenost od centra udubljenja u koji se stavlja biljni uzorak do centara ostalih udubljenja iznosi 41, 58, 82 i 92 mm. U kontroli se sjeme u posudi naklijava bez donor biljke. Posude se pokrivaju, zatvaraju sa strane parafilmom kako ne bi došlo do gubitka isparljivih spojeva i isušivanja. Nakon toga zamataju se u aluminijsku foliju da bi se spriječio prodor svjetla te se stavljaju na naklijavanje na 3 dana pri 25 °C.

3.2.1.3. Esencijalna ulja

Pri ispitivanju esencijalnih ulja odnosno isparljivih komponenata koristi se više metoda na umjetnim podlogama. Sjeme dolazi u direktan kontakt s uljem ili indirektan kontakt gdje utječu isparljive komponente.

Izolacija hidrodestilacijom i analiza esencijalnih ulja plinskom kromatografijom/masenom spektrometrijom prethode svakom pokusu (Rahimi i sur., 2013., Saad i Abdelgaleil, 2014.).

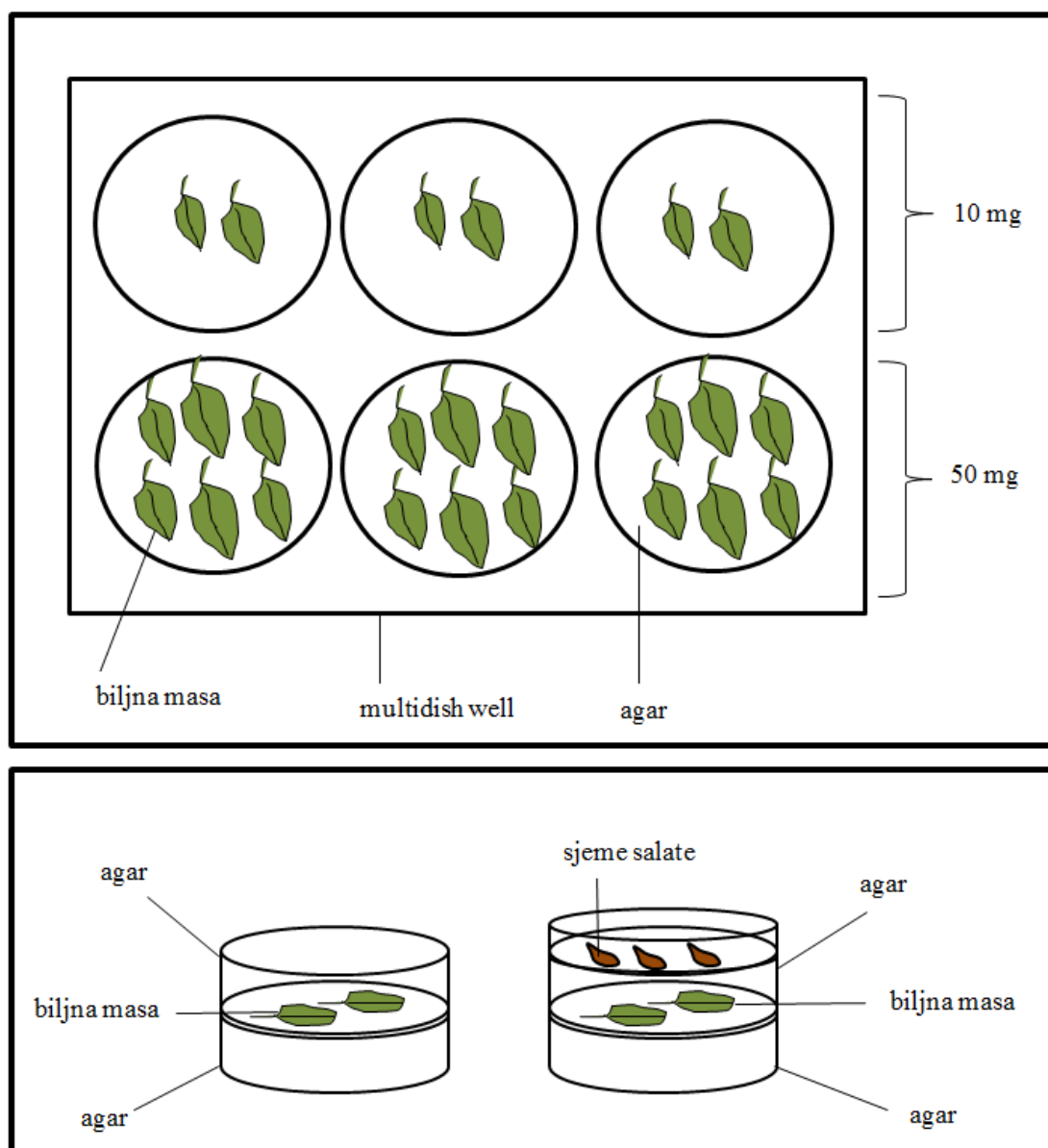
Kod direktnog kontakta, pokusi se sastoje od naklijavanja test vrste na filter papiru ili agru uz dodatak esencijalnog ulja, dok se u kontrolnom tretmanu naklijava se samo sjeme test vrste bez esencijalnog ulja (Demarque i sur., 2012., Saad i Abdelgaleil, 2014.). Esencijalno ulje može se rastvoriti u dietilnom eteru, te se nakon isparivanja otapala dodaje još destilirana voda (Saad i Abdelgaleil, 2014.) ili se rastvara u alkoholu i dodaje u Petrijeve zdjelice (Rahimi i sur., 2013.). Esencijalno ulje dodaje se i u agar nakon čega se stavlja sjeme na naklijavanje (Demarque i sur., 2012.).

Kod indirektnog kontakta, filter papir na kojem se naklijava sjeme navlažen je destiliranom vodom, dok se na drugi filter papir na kojem je dodano esencijalno ulje postavlja s unutrašnje strane poklopca Petrijeve zdjelice (Alves i sur., 2014.).

3.2.1.4. „Sandwich“ metoda

„Sandwich“ metoda koristi se za procjenu alelopatskog utjecaja alelokamikalija otpuštenih iz lišća biljaka, a osmislili su ju Fujii i sur. (2004.).

U pokusu „sandwich“ metode koristi se „multidish well“ posuda sa šest udubljenja veličine oko 10 cm² (shema 2.).



Shema 2. Pokus prema „Sandwich“ metodi (shema prema Fujii i sur., 2004.) (izradila: M. Ravlić)

U svako udubljenje stavlja se određena količina (10 ili 50 mg) osušenih listova. Zalijevanjem prvim slojem agra listovi se podignu na površinu, te se nakon želatinizacije dodaje još jedan sloj agra koji prekriva listove. Na površinu agra stavlja se sjeme salate kao test biljke. Kontrolni tretman sastoji se od naklijavanja sjemena salate na agru bez listova. Posude se zatvaraju, te stave na naklijavanje tijekom 3 dana pri 25 °C u tamu.

3.2.1.5. Interakcije među sjemenom - zajedničko klijanje sjemenja

Zajedničkim klijanjem sjemeni donor vrste sa sjemenom receptor (test) vrste istražuje se interakcija među sjemenom odnosno utjecaj korijenovih eksudata u najranijoj fazi razvoja biljaka.

U Petrijeve zdjelice na navlaženi filter papir slaže se u naizmjenične redove ista količina sjemeni donor i test vrste. U kontrolnom tretmanu naklijava se samo sjeme test vrste (Đikić, 2005.a,b, Hassannajed i sur., 2013.).

Pri zajedničkom klijanju mogu se istražiti i različite gustoće donor vrste te udaljenost među sjemenom donor i test vrste (Wardle i sur., 1991.).

3.2.1.6. Metode za istraživanje korijenovih eksudata kod interakcija među klijanjima

Više metoda koristi se za istraživanje interakcija među klijanjima biljaka, pri čemu je cilj utvrditi alelopatski utjecaj korijenovih eksudata donor biljke na test biljku. Najznačajnije metode su „Plant box“ metoda (PBM), metoda „Relay seeding technique“ (RST) i „Equal compartment agar method“ (ECAM).

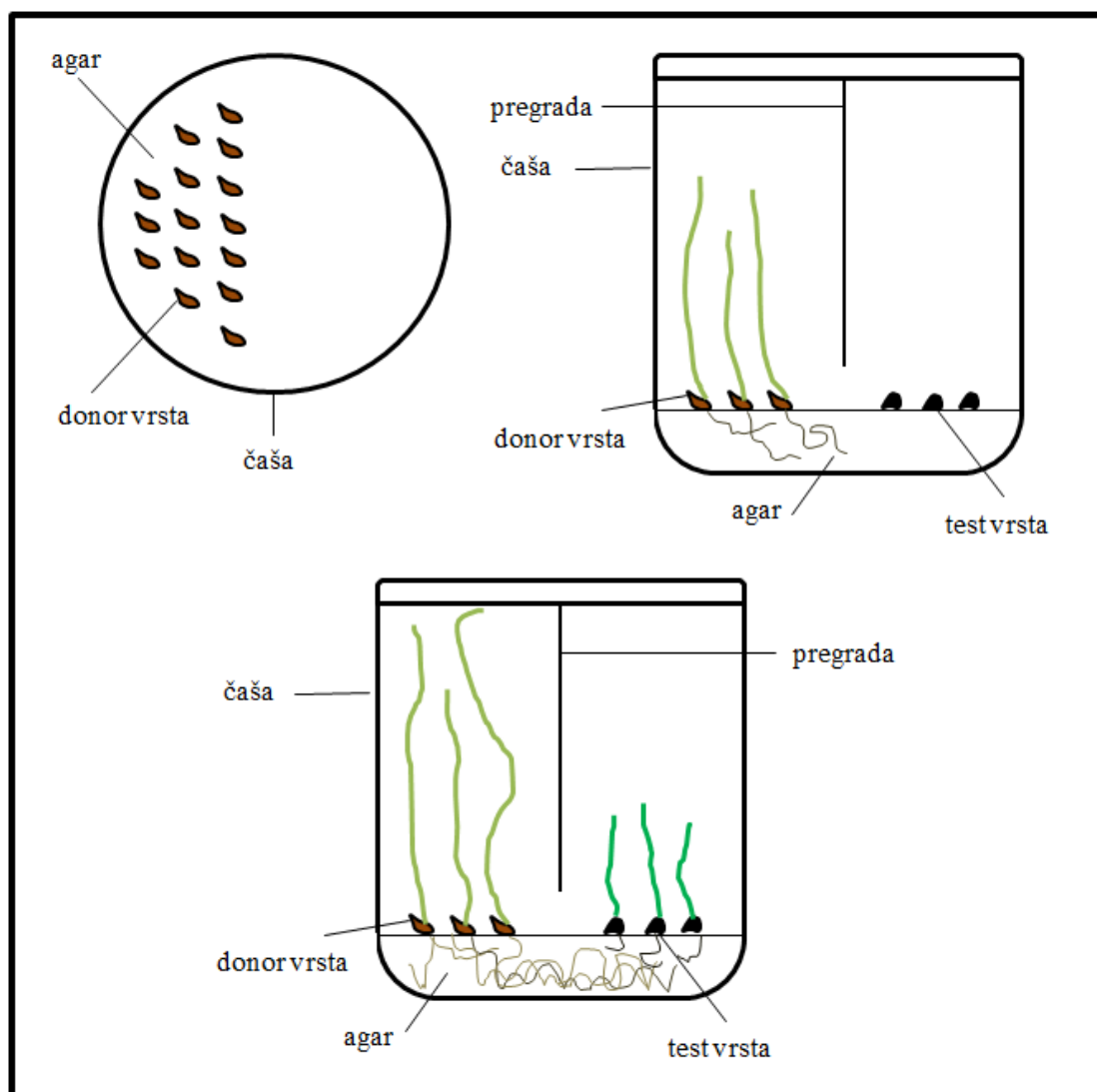
Kod „Plant box“ metode (PBM) (Fujii i sur., 2007.) jedinke biljke donora uzgajaju se u pijesku s hranjivom otopinom tijekom dva mjeseca. Nakon toga premještaju se u cijev te stave na jednu stranu kutije u kojoj se nalazi agar u koji će se izlučiti alelokemikalije iz korijena. Nakon želiranja agara na površinu se stavlja sjeme test biljke. Sjeme se naklijava pri određenoj temperaturi u tami. U kontrolnom tretmanu sjeme se sije u kutiju s agrom, ali se u cijev ne stavlja biljke donori.

„Relay seeding technique“ (RST) metodu razvili su Navarez i Olofsdotter (1996.). U Petrijevim zdjelicama na navlaženom filter papiru uzgajaju se klijanjci donor vrste tijekom 7 dana, a nakon toga se u Petrijeve zdjelice stavlja klijanjci test vrste. Vrste se zajedno uzgajaju u prozirnoj kutiji još 10 dana, te im se po potrebi dodaje voda. U kontrolnom tretmanu naklijava se samo sjeme test vrste.

„Equal compartment agar method“ (ECAM) (Wu i sur., 2000.) je metoda u kojoj se prethodno naklijano sjeme donor biljke sije na jednu stranu čaše napunjene agrom. Nakon što klijanjci donor vrste rastu sedam dana u kontroliranim uvjetima, na drugu stranu čaše sije se prethodno naklijano sjeme test vrste. U sredinu čaše stavlja se pregrada do 1 cm

iznad površine agra čime je cijela čaša podijeljena na dva jednaka dijela. Klijanci obje vrste zajedno rastu još 10 dana u kontroliranim uvjetima.

Broj odnosno gustoća donor vrste, vremenski period uzgoja donor vrste, udaljenost donor vrste od test vrste te raspored sjemena također mogu biti faktori kod primjene ECAM metode (Namdari i sur., 2012., Asaduzzaman i sur., 2014.).



Shema 3. Pokus prema „Equal compartment agar“ metodi (shema prema Wu i sur., 2000.)
(izradila: M. Ravlić)

3.2.1.7. Hidroponski testovi

Kod hidroponskih testova istražuju se korijenovi eksudati, a svaka metoda je vrlo specifična. Najčešće se pak skupljaju korijenovi eksudati biljke donora te se istražuje

njihov utjecaj na klijavost i rast test vrste u Petrijevim zdjelicama (Hao i sur., 2007., Heidarzade i sur., 2010.) ili se biljke donori uzgajaju u hidroponskim sustavima zajedno s test vrstama (Ding i sur., 2016.).

3.2.2. Pokusi u tlu

Pokusi u tlu podrazumijevaju istraživanja s biljnom masom (vodeni ekstrakti, biljni ostatci), tlom na kojem su rasle biljke donori (rezidualna toksičnost), utjecaj među sjemenom i klijancima te utjecaj korijenovih eksudata.

Pokusi u tlu u kontroliranim uvjetima mogu se postavljati u laboratoriju ili u staklenicima.

3.2.2.1. Ekstrakti biljaka

Ekstrakti biljaka pripremaju se kako je već prethodno opisano kod pokusa na umjetnim podlogama. Razlika kod pokusa u tlu je vrijeme, način i doza primjene.

Općenito se pokus sastoji od punjenja posuda tlom odnosno supstratom, sijanja sjemena test vrsta na potrebnu dubinu, te tretiranja vodenim ekstraktom od biljne mase biljke donora određene koncentracije odnosno destiliranom vodom u kontrolnom tretmanu. Kada klijanci test vrste dođu do određenog stadija, uklanjaju se iz tla te se mjere zadani parametri (Ravlić, 2015.).

Tretiranje vodenim ekstraktom može se obaviti zalijevanjem posuda odmah nakon sjetve ekstraktom u određenoj koncentraciji (%) i u određenoj količini (npr. ml ekstrakta po g ili kg tla). Nakon što se zadana količina vodenog ekstrakta utroši, sve se posude jednako zalijevaju destiliranom vodom ili se kontinuirano do kraja pokusa zalijevaju ekstraktom (Peneva, 2007., Singh i sur., 2013., Baličević i sur., 2014.b, Baličević i sur., 2015.b, Ravlić, 2015.).

Vodeni ekstrakt može se primijeniti i nakon nicanja test vrste (post-em) odnosno nakon što test vrsta dođe u određeni stadij razvoja. Ekstrakti se primjenjuju folijarno, kao i destilirana voda koja se koristi u kontrolnom tretmanu. Nakon tretiranja biljke se i dalje uzgajaju te se određuje fitotoksičnost ekstrakta i drugi parametri (Kadioğlu, 2004., Nekonam i sur., 2014.).

3.2.2.2. Biljni ostatci (rezidue)

U pokusima s biljnim ostacima (reziduama) istražuje se alelopatski utjecaj alelokemikalija koje su oslobođene dekompozicijom odnosno razgradnjom.

U pravilu se tretmani sastoje od sijanja test vrste u tlo u koje su umiješani biljni ostatci donor vrste (svježi ili suhi, cijele biljke ili biljnih dijelova) u određenoj dozi, dok u kontrolnom tretmanu sjeme se sije u tlo bez biljnih ostataka. Posude se zalijevaju destiliranom vodom, te kada test biljke dođu u određenu fazu razvoja mjere se zadani parametri (Kadioğlu, 2004., Peneva, 2007., Qasem, 2010., Nekonam i sur., 2014., Ravlić, 2015., Ravlić i sur., 2016.).

U posude s biljnim ostacima umjesto sjemena mogu se presaditi i tjedan ili dva stare presadnice test vrste (Qasem, 1995.).

Biljni ostatci u tlu mogu se ostaviti kako bi se razgradili, te se tek poslije određenog vremena u njega siju test biljke (Qasem, 2010.).

Biljna masa također se može umjesto miješanja koristiti kao malč, te se nakon sijanja test vrste u posude s tlom rasporediti po površini (Abbas i sur., 2016.)

3.2.2.3. Rezidualna toksičnost tla i utjecaj korijenovih eksudata

Svim metodama zajedničko je uklanjanje biljke donora iz tla prije testiranja na receptor vrsti, a time i prestanka kontinuiranog izlučivanja alelokemikalija.

Istraživanje rezidualne toksičnosti tla podrazumijeva utjecaj tla uzetog iz rizosfere na mjestu gdje su rasle biljke donori. Pokus se sastoji od sijanja sjemena test vrste u posude napunjene tlom na kojem su rasle jedinke biljke donora dok se u kontrolnom tretmanu koristi tlo na kojem nisu rasle biljke. Test biljke zalijevaju se destiliranom vodom i uzgajaju do određene faze (El-Khatib i sur., 2004., Tanveer i sur., 2010.).

Slično, utjecaj korijenovih eksudata može se istražiti sijanjem sjemena donor vrste u posude s tlom i uzgajanjem do određene fenološke faze. Nakon toga donor biljke zajedno s korijenom se uklanjaju iz tla te se sije sjeme test vrsta. U kontrolnom tretmanu koristi se tlo u kojem nisu rasle biljke donor vrste (Fragasso i sur., 2012.).

3.2.2.4. Interakcije među sjemenom i klijancima u tlu

Kao i u Petrijevim zdjelicama, u posudama s tlom može se procijeniti alelopatski utjecaj korijenovih eksudata biljke donora pri zajedničkom klijanju (Wardle i sur., 1991., Hoffman i sur., 1996., Đikić, 2004.). U pokusu može biti jednak omjer sjemena donor i test vrste (Đikić, 2004., Ravlić, 2015.) ili se može proučiti utjecaj gustoće donor vrste (Hoffman i sur., 1996.). Razmak sijanja sjemena također može biti faktor u pokusu (Wardle i sur., 1991.).

Utjecaj korijenovih eksudata u tlu može se istražiti i modificiranom „Relay seeding technique“ (RST) u kojoj se umjesto filter papira u Petrijeve zdjelice dodaje tlo (Ranagale i Wathugala, 2015.).

3.2.2.5. Testiranje genotipova

Iako se u svim pokusima kao test biljke mogu uzeti različiti genotipovi, kod istraživanja genotipova posebice je značajan utjecaj korijenovih eksudata, kako bi se iznašli genotipovi s visokom tolerancijom na alelokemikalije (Fragasso i sur., 2012.) ili genotipovi koji jačim izlučivanjem alelokemikalija negativno djeluju na korove i imaju povećanu kompetitivnu sposobnost (Kruse i sur., 2000.).

3.3. Poljski pokusi

Alelopatija u polju uključuje pokuse u kojima se procjenjuje utjecaj biljke donora uz sve vanjske utjecaje. U polju se mogu ponoviti gotovo svi pokusi koji se izvode u kontroliranim uvjetima te su vrlo slični metodološki. Poljski pokusi uključuju primjenu donor vrste u obliku ekstrakata, biljnih ostataka ili malča, zelene gnojidbe ili vidu zajedničkog rasta i razvoja. S obzirom na cilj pokusa, najčešće se poljskim pokusom pokušava ocijeniti utjecaj biljke donora na mogućnost suzbijanja korova, uz procjenu utjecaja na usjev. Pokusi su vremenski zahtjevniji i skuplji, obuhvaćaju sve pripreme radnje od odabira parcele, pripreme sheme pokusa, sjetve, odabira i primjene tretmana (doze, koncentracije) te mjerenja parametra tijekom pokusa i nakon pokusa (Dhima i sur., 2006., 2009., Awan i sur., 2012., Li i sur., 2015.).

3.4. Mjerenje parametara

Pokusi se postavljaju po različitim shemama, primjerice potpuno slučajan raspored, slučajni blok raspored, split-split plot, svaki pokus ima više ponavljanja te se cijeli pokus najčešće ponavlja dva puta (Tanveer i sur., 2010., Edrisi i Farahbakhsh, 2011., Balah i Nassar, 2011., Ravlić, 2015., Waris i sur., 2016.).

Duljina pokusa ovisi o korištenoj metodi te mjerenim parametrima. Pokusi na umjetnim podlogama traju kraće, primjerice do 10 dana (Balah i Nassar, 2011., Nekonam i sur., 2014., Baličević i sur., 2014.a,b, Ravlić, 2015., Waris i sur., 2016.), dok pokusi u tlu i na polju traju duže (jedan ili više mjeseci) odnosno najčešće do kraja vegetacije odnosno zriobe test biljke (Peneva, 2007., Dhima i sur., 2006., 2009., Nekonam i sur., 2014., Abbas i sur., 2016.).

Ukoliko se u pokusu koriste ekstrakti potrebno je odrediti njihov pH, osmolalnost, sadržaj alelokemikalija (fenola, tanina) i nutritivni sadržaj ekstrakata tla (Singh i sur., 2013., Golubinova i Ilieva, 2014., Caboun i John, 2015.). Identifikacija alelokemikalija u ekstraktima odvija se pomoću HPLC uređaja (Balah i Nassar, 2011.).

Djelovanje alelopatije ocjenjuje se na kraju pokusa kroz mjerenje različitih parametara, ovisno o vrsti pokusa. Najčešće se prate kvantitativni pokazatelji rasta i razvoja te izražavaju brojčano, no česte su i vizualne ocjene. Svi mjereni parametri u tretmanima uspoređuju se s parametrima u kontrolnom tretmanu.

Najčešći i najznačajniji mjereni parametri početnog rasta i razvoja test biljaka:

1. klijavost sjemena (na umjetnim podlogama) odnosno nicanje (pokusi u tlu) (u %),
2. prosječno vrijeme klijanja (MGT), indeks klijavosti (GI), indeks vigora klijanaca (SVI),
3. duljina korijena (u cm, mm),
4. duljina izdanka / visina biljke (u cm, mm),
5. ukupna duljina klijanaca (u cm, mm),
6. svježa biomasa (korijena, izdanka, cijele biljke) (u g, mg),
7. suha biomasa (korijena, izdanka, cijele biljke) (u g, mg) (Randhawa i sur., 2002., Norsworthy, 2003., Peneva, 2007., Baličević i sur., 2014.a,b, Ravlić, 2015., Abbas i sur., 2016.).

Postotak klijavosti izračunava se za svako ponavljanje pomoću formule (Waris i sur., 2016.):

$$\text{Klijavost (\%)} = (\text{broj iskljanih sjemenki} / \text{ukupan broj sjemenki}) \times 100.$$

Za prosječno vrijeme klijanja (MGT - Mean germination time) potrebno je pratiti kontinuirano klijavost sjemeni, te se izračunava prema jednadžbi Ellis i Roberts (1981.):

$MGT = \sum (Dn) / \sum n$; gdje je n broj sjemenki koje je isključalo u danu D, a D je broj dana od početka klijanja.

Indeks klijavosti (GI) izračunava se pomoću formule (AOSA, 1983.):

$$GI = \text{broj proklijalih sjemenki} / \text{dani prvog prebrojavanja} + \dots + \text{broj proklijalih sjemenki} / \text{konačni broj dana}.$$

Indeks vigora klijanaca (SVI – Seedling vigor index) izračunava se prema formuli (Abdul-Baki i Anderson, 1973.):

$$SVI (i) = \text{duljina klijanaca} \times \text{klijavost sjemeni} \text{ ili } SVI (ii) = \text{suha masa klijanaca} \times \text{klijavost sjemeni}.$$

U pokusima u tlu mjere se i sljedeći parametri, posebice ukoliko se test vrsta uzgaja do kasnijih fenoloških faza razvoja:

1. postotak preživljavanja (Nekonam i sur., 2014.),
2. broj jedinki po m²,
3. svježa i suha biljna masa po m² (Awan i sur., 2012.),
4. duljina klasa žitarica,
5. broj sjemeni po biljci (Awan i sur., 2012., Abbas i sur., 2016.),
6. lisna površina (Qasem, 1995., Nekonam i sur., 2014.),
7. prinos,
8. masa 1000 zrna,
9. žetveni indeks (Dhima i sur., 2009., Awan i sur., 2012.).

Brojni drugi pokazatelji mogu se mjeriti kako bi se utvrdilo alelopatsko djelovanje:

1. količina klorofila i karotenoida (Nekonam i sur., 2014.),
2. postotak vlage (Sher i sur., 2011.),

3. mitotički indeks, pojava kromosomskih abnormalnosti,
4. količina fitohormona (indol acetatna kiselina, giberelinska kiselina, abscisinska kiselina, salicilna kiselina) (Sunar i Agar, 2017.),
5. ukupna količina proteina (Verma i Rao, 2006.),
6. sadržaj ugljikohidrata,
7. sadržaj fenola,
8. antioksidativna aktivnost (Hegab i Ghareib, 2010.).

Na kraju svakog pokusa podatci se analiziraju statističkim metodama, i to najčešće ANOVA analizom kako bi se usporedili tretmani alelopatije s kontrolnim tretmanima i međusobno (Peneva, 2007., Baličević i sur., 2014.a,b, Ravlić, 2015.).

4. Prednosti i nedostaci

Većina istraživanja u alelopatiji provodi se u laboratorijskim kontroliranim uvjetima na umjetnim podlogama prije opsežnijeg istraživanja (Chon i Nelson, 2010.), iako je na taj način nemoguće oponašati uvjete u polju (Qasem i Hill, 1989.). Međutim, laboratorijska istraživanja omogućuju eliminiranje svih drugih utjecaja koji se odvijaju u poljskim uvjetima (Inderjit i Dakshini, 1995.).

Pokusi s ekstraktima su jednostavni, brzi i mogu se koristiti kao preliminarni testovi (Wu i sur., 2001.). Prednost u primarnom pokazivanju alelopatskog djelovanja imaju vodeni ekstrakti umjesto organskih otapala s obzirom da pobliže odražavaju uvjete odnosno interakcije koje se odvijaju u prirodi (Blum, 2011.). Međutim, istraživanja s ekstraktima imaju i brojne nedostatke. Primjerice, Lovett (1982.) navodi da maceracija i mljevenje biljnog materijala može uzrokovati otpuštanje spojeva koji se u prirodi inače ne bi otpustili, a time i povećanje alelopatskog utjecaja u pokusu. Ekstrakti mogu imati i povećani osmotski potencijal te više koncentracije mineralnih elemenata i drugih organskih molekula ekstrahiranih iz biljnih tkiva koji mogu djelovati na povećanu inhibiciju klijavosti sjemena (Qasem, 2010.).

Kod uporabe „dish pack“ i „sandwich“ metoda iznimna je prednost mogućnost istraživanja vrlo velikog broja biljaka lako i u kratkom vremenskom periodu (Fujii i sur., 2000., 2004., Amini i sur., 2014.). Slično, ECAM metoda je brza, jednostavna i jeftina kao preliminarni pokus u laboratorijskim uvjetima. Također, osigurava kontinuirano izlučivanje alelokemikalija u agar što simulira uvjete u prirodi (Wu i sur., 2000.). Prilikom provođenja ECAM metode moguće je uključiti i tretman s aktivnim ugljenom te tako provesti test detoksifikacije alelokemikalija. Naime, aktivni ugljen potpuno apsorbira alelokemikalije i ne utječe na druge faktore, te ukoliko su alelokemikalije odgovorne za negativno djelovanje na test vrste, u tretmanu s aktivnim ugljenom inhibitorni učinak će biti manji (Kruse i sur., 2000., Wu i sur., 2000., Namdari i sur., 2012., Asaduzzaman i sur., 2014.). S druge strane, iako PBM metoda osigurava kontinuirano izlučivanje alelokemikalija, s obzirom na materijale koji su potrebni i duljinu pokusa (oko 2 mjeseca) nije pogodna za brzo testiranje velikog broja vrsta (Navarez i Olofsdotter, 1996.).

Wu i sur. (1999.) navode da je nakon pokusa na umjetnim podlogama alelopatsko djelovanje potrebno istražiti i u pokusima s tlom odnosno u staklenicima i u polju, s obzirom da se rezultati mogu značajno razlikovati (Baličević i sur., 2015.b, Ravlić, 2015.).

Iako i kod pokusa u tlu odnosno na polju brojni čimbenici mogu utjecati na rezultate, pa je primjerice potrebno analizirati i navesti karakteristike korištenog supstrata (Abbas i sur., 2016.). Dodavanje biljnih ostataka može utjecati na smanjenu dostupnost hraniva i negativan utjecaj na biljke što se pogrešno može protumačiti kao alelopatsko djelovanje (Qasem i Hill, 1989.).

Kod istraživanja je obvezno potrebno provesti više testova te koristiti više tehnika kako bi se potvrdili rezultati (Qasem i Hill, 1989.).

5. Zaključak

Alelopatija predstavlja složen biološki fenomen međusobnog utjecaja među biljkama u prirodnim i agroekosustavima.

Za istraživanje alelopatskog potencijala ne postoje standardizirani protokoli, međutim brojne su metode koje se mogu primijeniti u kontroliranim uvjetima i u poljskim pokusima za procjenu svakog mogućeg načina izlučivanja alelokemikalija u okoliš.

Izbor metode često ovisi o cilju istraživanja, a pokusi se mogu postaviti u kontroliranim uvjetima na umjetnim podlogama i u tlu, te u polju.

U kontroliranim uvjetima procjenjuje se najčešće alelopatski utjecaj vodenih ekstrakata u Petrijevim zdjelicama na filter papiru, kao preliminarni test, međutim često se istražuje i utjecaj korijenovih eksudata te interakcije među sjemenom i klijancima na umjetnim podlogama i u posudama s tlom.

Poljski pokusi zahtijevaju više vremena i skuplji su od laboratorijskih, te su krajnji cilj alelopatske procjene neke biljne vrste.

Svaka od metoda ima prednosti, ali i nedostatke, stoga je za potpunu procjenu alelopatskog potencijala pojedine biljne vrste potrebno provesti više različitih metoda.

6. Popis literature

1. Abbas, T., Nadeem, M.A., Tanveer, A., Farooq, N., Zohaib, A. (2016.): Mulching with allelopathic crops to manage herbicide resistant littleseed canarygrass. *Herbologia*, 16(1): 31-40.
2. Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D. (1973.): Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13:630–633.
3. Alam, S.M., Ala, S.A., Azmi, A.R., Khan, M.A., Ansari, R. (2001.): Allelopathy and its Role in Agriculture. *Journal of Biological Sciences*, 1(5): 308-315.
4. Alipour, S., Farshadfar, E., Amiran, M., Montazeri, M. (2013.): The effect of St John's wort (*Hypericum perforatum*) extract on the weeds of corn (*Zea mays* L.) under laboratory condition. *Annals of Biological Research*, 4(6): 23-28.
5. Alves, M.C.S., Medeiros Filho, S., Manoel Neto, A., Brito, R.C., Araujo, R.C.. (2014.): Allelopathic effect of essential oils of medicinal plants in *Bidens pilosa* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 16(3, Suppl. 1): 731-736.
6. Amini, S., Azizi, M., Joharchi, M.R., Shafei, M.N., Moradinezhad, F., Fujii, Y. (2014.): Determination of allelopathic potential in some medicinal and wild plant species of Iran by dish pack method. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26(3-4): 189-199.
7. Amini, R., An, M., Pratley, J., Azimi, S. (2009.): Allelopathic assessment of annual ryegrass (*Lolium rigidum*): Bioassays. *Allelopathy Journal*, 24(1): 67-76.
8. AOSA (1983.): Seed vigor hand testing book. Contribution No. 32. To the handbook of seed testing. Association of Official Seed Analysis. Springfield, IL.
9. Asaduzzaman, Md., An, M., Pratley, J.E., Luckett, D.J., Lemerle, D. (2014.): Laboratory bioassay for canola (*Brassica napus*) allelopathy. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 17(4): 267-272.
10. Awan, F.K., Rasheed, M., Asfhar, M., Khurshid, M.Y. (2012.): Efficacy of brassica, sorghum and sunflower aqueous extracts to control wheat weeds

under rainfed conditions of Pothwar, Pakistan. The Journal of Animal and Plant Sciences, 22(3): 715-721.

11. Aziz, A., Tanveer, A., Ali, A., Yasin, M., Babar, B.H., Nadeem, M.A. (2008.): Allelopathic effect of cleavers (*Galium aparine*) on germination and early growth of wheat (*Triticum aestivum*). Allelopathy Journal, 22(1): 25-34.
12. Balah, M.A., Nassar, M.I. (2011.): Allelopathic constituents from *Abutilon theophrasti* aerial parts to other weeds. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 7(2): 243-250.
13. Baličević, R., Ravlić, M., Lucić, P., Lazić, A. (2017.): Alelopatski utjecaj vrste *Aloe vera* (L.) Burm. f. na klijavost i rast luka i bosiljka. U: Zbornik radova 52. hrvatskog i 12. međunarodnog simpozija agronoma, Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, 298-301.
14. Baličević, R., Ravlić, M., Kleflin, J., Tomić, M. (2016.): Allelopathic activity of plant species from *Asteraceae* and *Polygonaceae* family on lettuce. Herbologia, 16(1): 23-30.
15. Baličević, R., Ravlić, M., Čuk, P., Šević, N. (2015.a): Allelopathic effect of three weed species on germination and growth of onion cultivars. U: Proceedings & abstract of the 8th International Scientific/Professional Conference Agriculture in Nature and Environment Protection, Glas Slavonije d.d., Osijek, 205-209.
16. Baličević, R., Ravlić, M., Živković, T. (2015.b): Allelopathic effect of invasive species giant goldenrod (*Solidago gigantea* Ait.) on crops and weeds. Herbologia, 15(1): 19-29.
17. Baličević, R., Ravlić, M., Ravlić, I. (2015.c): Allelopathic effect of aromatic and medicinal plants on *Tripleurospermum inodorum* (L.) C.H. Schultz. Herbologia, 15(2): 40-53.
18. Baličević, R., Ravlić, M., Knežević, M., Serezlija, I. (2014.a): Allelopathic effect of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) water extracts on germination and initial growth of maize. The Journal of Animal and Plant Sciences, 24(6): 1844-1848.
19. Baličević, R., Ravlić, M., Knežević, M., Marić, K., Mikić, I. (2014.b): Effect of marigold (*Calendula officinalis* L.) cogermination, extracts and residues on

- weed species hoary cress (*Cardaria draba* (L.) Desv.). *Herbologia*, 14(1): 23-32.
20. Bakhshayeshan-Agdam, H., Salehi-Lisar, S.Y., Motafakkerazad, R., Talebpour, A., Farsad, N. (2015.): Allelopathic effects of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) on germination & growth of cucumber, alfalfa, common bean and bread wheat. *Acta Agriculturae Slovenica*, 105(2): 193-202.
 21. Blime, JM (2001.): The role of bryophytes in temperate forest ecosystems. *Hikobia*, 13:267–289.
 22. Blum, U. (2011.): Plant-plant allelopathic interactions: Phenolic acids, crop cover and weed emergence. Springer, Dordrecht. 2000.
 23. Bukharov, A.F., Baleev, D.N. (2014.): Seed allelopathy effect in vegetable celery crops. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologia*, 1: 86-90.
 24. Caboun, V., John, J. (2015.): Allelopathy research methods in forestry. *Allelopathy Journal*, 36(2): 133-166.
 25. Chon, S.U. (2004.): Allelopathic and autotoxic effects of alfalfa plant and soil extracts. *Korean Journal of Crop Science*, 49(1): 7-11.
 26. Chon, S.U., Jennings, J.A., Nelson, C.J. (2006.): Alfalfa (*Medicago sativa* L.) autotoxicity: Current status. *Allelopathy Journal*, 18(1): 57-80.
 27. Chon, S.U., Nelson, C.J. (2010.): Allelopathy in Compositae plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(2): 349-358.
 28. Chon, S.U., Jang, H.G., Kim, D.K., Kim, Y.M., Boo, H.O., Kim, Y.J. (2005.): Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Scientia Horticultura*, 106: 309-317.
 29. Chou, C.H. (1999.): Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable Agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(5): 609-636.
 30. Dayan, F.E., Romagni, J.G., Duke, S.O. (2000.): Investigation of the mode of action of natural phytotoxins. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 2079-2094.
 31. Demarque, D.P., Sabóia, J.F., Fabri, J.R., Carollo, C.A. (2012.): Allelopathic activity of *Matricaria chamomilla* essential oil in bioautography test. *Allelopathy Journal*, 29(1): 171-176.
 32. Dhima, K.V., Vasilakoglou, I.B., Gatsis, Th.D., Panou-Pholothou, E., Eleftherohorinos, I.G. (2009.): Effects of aromatic plants incorporated as

- green manure on weed and maize development. *Field Crops Research*, 110: 235-241.
33. Dhima, K.V., Vasilakoglou, I.B., Eleftherohorinos, I.G., Lithourgidis, A.S. (2006.): Allelopathic potential of winter cereals and their cover crop mulch effect on grass weed suppression and corn development. *Crop Science*, 46: 345–352.
 34. Díaz de Villegas, M.E., Delgado, G., Rivas, M., Torres, E., Saura, M. (2011.): Implementation of an in vitro bioassay as an indicator of the bionutrient FitoMas E. *Ciencia e investigación agraria*, 38(2): 205-210.
 35. Ding, H., Cheng, Z., Liu, M., Hayat, S., Feng, H. (2016.): Garlic exerts allelopathic effects on pepper physiology in a hydroponic co-culture system. *Biology Open*, 5(5): 631–637.
 36. Đikić, M. (2005.a): Allelopathic effect of cogermination of aromatic and medicinal plants and weed seeds. *Herbologia*, 6(1): 15-24.
 37. Đikić, M. (2005.b): Allelopathic effect of aromatic and medicinal plants on the seed germination of *Galinsoga parviflora*, *Echinochloa crus-galli* and *Galium mollugo*. *Herbologia*, 6(3): 51-57.
 38. Đikić, M. (2004.): Alelopatski utjecaj aromatičnog, ljekovitog i krmnog bilja na klijanje, nicanje i rast korova i usjeva. Doktorska disertacija, Univerzitet u Sarajevu, Poljoprivredni fakultet Sarajevo, Sarajevo.
 39. Edrisi, S, Farahbakhsh, A. (2011.): Germination of Barley as affected by the allelopathy of *Sisymbrium irio* L. and *Descurainia sophia* (L.) Schur. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 50: 644-646.
 40. Einhellig F.A. (1996.): Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal*, 88: 886–893.
 41. El-Khatib, A.A., Hegazy, A.K., Galal, H.K. (2004.): Allelopathy in the rhizosphere and amended soil of *Chenopodium murale* L. *Weed Biology and Management*, 4: 35-42.
 42. Ellis, R.A., Roberts, E.H. (1981.): The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373-409.
 43. Fragasso, M., Platani, C., Miullo, V., Papa, R., Iannucci, A. (2012.): A bioassay to evaluate plant responses to the allelopathic potential of rhizosphere soil of wild oat. *Agrochimica*, 56(2): 120-128.

44. Fujii, Y., Matsuyama, M., Hiradate, S., Nakatani, K. (2000.): Development of new bioassay for volatile allelochemicals: dish-pack method. *Weed Science and Technology*, 45:80-81.
45. Fujii, Y., Shibuya, T., Nakatani, K., Itani, T., Hiradate, S., Perves, M.M. (2004.): Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. *Weed Biology and Management*, 4: 19-23.
46. Fujii, Y., Pariasca, D., Shibuya, T., Yasuda, T., Kahn, B., Waller, G.R. (2007.): Plant-box method: a specific bioassay to evaluate allelopathy through root exudates. U: *Allelopathy, New concept and methodology*, Science Publishers, Enfield, NH, USA. 39-56.
47. Gajić, D., Malenčić, S., Vrbaški, S. (1972.): Study of quantitative and qualitative improvement of wheat yield through Agrostemin as an allelopathic factor. *Fragmenta Herbologica Yugoslavica*, 63: 121-141.
48. Golubinova, I., Ilieva, A. (2014.): Allelopathic effect of water extracts of *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Convolvulus arvensis* L. and *Cirsium arvense* Scop. on early seedling growth of some leguminous crops. *Pesticides and Phytomedicine*, 29(1): 35-43.
49. Hamrouni, L., Hanana, M., Amri, I., Romane, A.E., Gargouri, S., Jamoussi, B. (2015.): Allelopathic effects of essential oils of *Pinus halepensis* Miller: chemical composition and study of their antifungal and herbicidal activities. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48: 145-158.
50. Hao, Z.P., Wang, Q., Christie, P., Li, X.L. (2007.): Allelopathic potential of watermelon tissues and root exudates. *Scientia Horticulturae*, 112: 315-320.
51. Hassannejad, S., Porheidar-Ghafarbi, S., Lofti, R. (2013.): Assessment of seed to seed allelopathic potential of corn (*Zea mays* L.) on seed and seedling growth of some volunteer species. *International Journal of Biosciences*, 3(1): 121-127.
52. Hegab, M.M., Ghareib, H.R. (2010.): Methanol extract potential of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) for wheat growth enhancement. *International Journal of Botany*, 6(3): 334-342.
53. Heidarzade, A., Pirdashti, H., Esmali, M. (2010.): Quantification of allelopathic substances and inhibitory potential in root exudates of rice (*Oryza sativa*) varieties on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* L.). *Plant Omics Journal*, 3(6): 204-209.

54. Hoffman, M.L., Weston, L.A., Snyder, J.C., Regnier, E.E. (1996.): Allelopathic influence of germinating seeds and seedlings of cover crops on weed species. *Weed Science*, 44: 579-584.
55. Inderjit, Dakshini, K.M.M. (1995.): On laboratory bioassay in allelopathy. *The Botanical Review*, 61(1): 28-44.
56. Inderjit, Dakshini, K.M.M. (1994.): Algal allelopathy. *The Botanical Review*, 60(2): 182-196.
57. Jacob, J., Patil, R.H., Joy, M., Nair A.M. (2006.): Methodology of allelopathy research: Agroforestrysystems. *Allelopathy Journal*, 18: 173-214.
58. Jafariehyazdi, E., Javidfar, F. (2011.): Comparison of allelopathic effects of some brassica species in two growth stages on germination and growth of sunflower. *Plant, Soil & Environment*, 57(2): 52-56.
59. Kadioğlu, I. (2004.): Effects of hearleaf cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) extracts on some crops and weeds. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(6): 696-700.
60. Kadioğlu, I., Yanar, Y. (2004.): Allelopathic effects of plant extracts against seed germination of some weeds. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(4): 472-475.
61. Kato-Noguchi, H., Saito, Y., Ohno, O., Suenaga, K. (2013.): Allelopathy is involved in the formation of pure colonies of the fern *Gleichenia japonica*. *Journal of Plant Physiology*, 170(6): 577-582.
62. Kato-Noguchi, H., Seki, T. (2010.): Allelopathy of the moss *Rhynchostegium pallidifolium* and 3-hydroxy- β -ionone. *plant Signaling and Behavior*, 5(6): 702-704.
63. Kazinczi, G., Pál-Fám, F., Nádasy, E., Takács, A., Horváth, J. (2013.): Allelopathy of some important weeds in Hungary. *Zbornik predavanj in referatov 11. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo*, Bled, 5.-6. marec 2013, Plant Protection Society of Slovenia, pp. 410-415.
64. Khanh, T.D., Cong, L.C., Xuan, T.D., Lee, S.J., Kong, D.S., Chung, I.M. (2008.): Weed-suppressing potential of dodder (*Cuscuta hygrophilae*) and its phytotoxic constituents. *Weed Science*, 56(1): 119-127.

65. Knežević, M. (2006.): Atlas korovne, ruderalne i travnjačke flore. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek. 402.
66. Kruse, M., Strandberg, M., Strandberg, B. (2000.): Ecological effects of allelopathic plants – a Review. NERI Technical Report No. 315, National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark. 66.
67. Kumar, R. (1991.): Studies on autotoxicity in *Lantana camara* L. Doktorski rad. Punjab University, Chandigarh, Indija.
68. Kwiecińska-Poppe, E., Kraska, P., Pałys, E. (2011.): The influence of water extracts from *Galium aparine* L. and *Matricaria maritime* subsp. *inodora* (L.) Dostál on germination of winter rye and triticale. Acta Sci. Pol., Agricultura, 10(2): 75-85.
69. Lalljee, B., Facknath, S. (2000.): Allelopathic interactions in soil. U: Allelopathy in ecological agriculture and forestry. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. 47-58.
70. Li, J.Y., Guo, X.K., Zhang, Q., Liu, C.H., Lin, Z.H., Yu, Z.M., Wu, H., He, H.B. (2015.): A novel screening method for rice allelopathic potential: the inhibitory-circle method. Weed Research, 55(5): 441-448.
71. Liu, D.L., Lovett, J.V. (1993.): Biologically active secondary metabolites of barley. II. Phytotoxicity of barley allelochemicals. Journal of Chemical Ecology, 19: 2231-2244.
72. Lovett, J.V. (1982.): The effects of allelochemicals on crop growth and development. U: Chemical manipulation in crop growth and development. Butterworth, London. 93-110.
73. Marinov-Serafimov, P. (2010.): Determination of allelopathic effect of some invasive weed species on germination and initial development of grain legume crops. Pesticides and Phytomedicine, 25(3): 251-259.
74. Marinov-Serafimov, P., Golubanova, I. (2015.): A study of suitability of some conventional chemical preservatives and natural antimicrobial compounds in allelopathic research. Pesticides and Phytomedicine, 30(4): 233-241.
75. Namdari, T., Amini, R., Sanayei, S., Alavi-Kia, S., Mohammadi-Nasab, A.D. (2012.): Allelopathic effects of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) root exudates on common bean seedling growth. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(6): 1230-1234.

76. Narwal, S.S., Palaniraj, R., Sati, S.C. (2005.): Role of allelopathy in crop production. *Herbologia*, 6(2): 1-69.
77. Navarez, D.C., Olofsdotter, M. (1996.): Relay seeding technique for screening allelopathic rice (*Oryza sativa* L.). U: Proc. 2nd International Weed control Congress, Copenhagen, Denmark. 1285-1290.
78. Nekonam, M.S., Razmjoo, J., Kraimmojeni, H., Sharif, B., Amini, H., Bahrami, F. (2014.): Assessment of some medicinal plants for their allelopathic potential against redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). *Journal of Plant Protection Research*, 54(1): 90-95.
79. Nikolić, T., Mitić, B., Boršić, I. (2014.): Flora Hrvatske: invazivne biljke. Alfa d.d. Zagreb. 296.
80. Norsworthy, J. K. (2003.): Allelopathic potential of wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Weed Technology*, 17: 307-313.
81. Pacanoski, Z., Velkoska, V., Týr, Š, Vereš, T. (2014.): Allelopathic potential of jimsonweed (*Datura stramonium* L.) on the early growth of maize (*Zea mays* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Central European Agriculture*, 15(3): 198-208.
82. Peneva, A. (2007.): Allelopathic effect of seed extracts and powder of coffee (*Coffea arabica* L.) on common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 205-211.
83. Pezerović, T. (2016.): Alelopatski utjecaj invazivne vrste ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia* L.) na usjeve. Završni rad, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek. 28.
84. Popa, V.I., Dumitru, M., Volf, I., Anghel, N. (2008.): Lignin and polyphenols as allelochemicals. *Industrial Crops and Products*, 27: 144-149.
85. Qasem, J.R. (2010.): Differences in the allelopathy results from field observations to laboratory and glasshouse experiments. *Allelopathy Journal*, 26(1): 45-58.
86. Qasem, J.R., Hill, T.A. (1989.): On difficulties with allelopathy methodology. *Weed Research*, 29: 345-347.
87. Qasem, J.R. (1995.): Allelopathic effects of *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium murale* on vegetable crops. *Allelopathy Journal*, 2(1): 49-66.
88. Rahimi, A.R., Mousavizadeh, S.J., Mohammadi, H., Rokhzadi, A., Majidi, M., Amini, S. (2013.): Allelopathic effect of some essential oils on seed

- germination of *Lathyrus annuus* and *Vicia villosa*. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 3(4): 67-73.
89. Ranagale, A.S., Wathugala, D.L. (2016.). Comparison of allelopathic potential of Sri Lankan traditional rice varieties (*Oryza sativa* L.) using radish (*Raphanus sativus* L.) as an indicator plant. Tropical Agricultural Research and Extension, 18(1): 12–21.
 90. Randhawa, M.A., Cheema, Z.A., Ali, M.A. (2002.): Allelopathic effect of sorghum water extract on the germination and seedling growth of *Trianthema portulacastrum*. International Journal of Agriculture & Biology, 4(3): 383-384.
 91. Ravlić, M., Baličević, R., Lončar, M. (2017.): Procjena alelopatskog utjecaja vrste *Aloe vera* (L.) Burm.f. na klijavost i rast matovilca i mrkve. U: Proceedings & abstract of the 10th International Scientific/Professional Conference Agriculture in Nature and Environment Protection, Glas Slavonije d.d., Osijek, 158-162.
 92. Ravlić, M., Baličević, R., Nikolić, M., Sarajlić, A. (2016.): Assessment of allelopathic potential of fennel, rue and sage on weed species hoary cress (*Lepidium draba*). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 44(1): 48-52.
 93. Ravlić, M. (2015.): Alelopatsko djelovanje nekih biljnih vrsta na rast i razvoj usjeva i korova. Doktorski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek. 147.
 94. Ravlić, M., Baličević, R., Peharda, A. (2015.a): Allelopathic effect of invasive species giant goldenrod (*Solidago gigantea* Ait.) on wheat and scentless mayweed. Proceedings & abstract of the 8th International Scientific/Professional Conference Agriculture in Nature and Environment Protection, Glas Slavonije d.d., Osijek, 186-190.
 95. Ravlić, M., Baličević, R., Lucić, P., Mazur, P., Lazić, A. (2015.b): Dormancy and germination of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.) and redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) seeds. Herbologia, 15(2): 28-39.
 96. Ravlić, M., Baličević, R., Lucić, I. (2014.): Allelopathic effect of parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) cogermination, water extracts and residues on hoary cress (*Lepidium draba* (L.) Desv.). Poljoprivreda, 20(1): 22-26.

97. Ravlić, M., Baličević, R., Knežević, M., Ravlić, J. (2013.): Allelopathic effect of creeping thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) on germination and early growth of winter wheat and winter barley. U: Proceedings of 48th Croatian and 8th International Symposium on Agriculture. Poljoprivredni fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek. 97-100.
98. Reichel, T., Barazetti, J.F., Stefanello, S., Paulert, R., Zonetti, P.C. (2013.): Allelopathy of leaf extracts of jatropha (*Jatropha curcas* L.) in the initial development of wheat. *Idesia*, 3(1): 45-52.
99. Rice, E.L. (1984.): Allelopathy. 2nd edition. Academic Press, Orlando, Florida.
100. Rizvi, S.J.H., Haque, H., Singh, V.K., Rizvi, V. (1992.): A discipline called allelopathy. U: Allelopathy. Basic and applied aspects. Chapman and Hall, London. 1-8.
101. Romeo, J.T., Weidenhamer, J.D. (1998.): Bioassays for allelopathy in terrestrial plants. U: K.F. Haynes and J.G. Millar (ur.), Methods of Chemical Ecology, Volume 2, Bioassay Methods. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts. 179–211.
102. Saad, M.M.G., Abdelgaleil, S.A.M. (2014.): Allelopathic potential of essential oils isolated from aromatic plants on *Silybum marianum* L. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*, 3(9): 289-297.
103. Sekutowski, T.R., Bortniak, M., Domaradzki, K. (2012.): Assessment of allelopathic potential of invasive plants – goldenrod (*Solidago gigantea*) on buckwheat (*Fagopyrum sagittatum*) and sunflower (*Helianthus annuus*). *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 57(4): 86-91.
104. Shaukat, S.S., Munir, N., Siddiqui, I.A. (2003.): Allelopathic response of *Conyza canadensis* (L.) Cronquist. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2(14): 1034-1039.
105. Sher, Z., Hussain, F., Ahmad, B., Wahab, M. (2011.): Allelopathic potential of *Populus euphratica* Olivier. *Pakistan Journal of Botany*, 43(4): 1899-1903.
106. Siddiqui, S., Bhardwaj, S., Khan, S. S., Meghvanshi, M. K. (2009.): Allelopathic Effect of Different Concentration of Water Extract of *Prosopis juliflora* Leaf on Seed Germination and Radicle Length of Wheat (*Triticum*

- aestivum* Var-Lok-1). American-Eurasian Journal of Scientific Research, 4(2): 81-84.
107. Singh, N.B., Kumar, S., Singh, D., Yadav, K. (2013.): Allelopathic effects of different phenological stages of *Cassia occidentalis* L. on *Parthenium hysterophorus* L. Iranian Journal of Plant Physiology, 3(4): 817-828.
 108. Singh, H.P., Kohli, R.K., Batish, D.R., Kaushal, P.S. (1999.): Allelopathy of gymnospermous trees. Journal of Forest Research, 4: 245-254.
 109. Singh, H.P., Batish, D.R., Kohli, R.K. (2001.): Allelopathy in agroecosystems: an overview. Journal of Crop Production, 14(4): 1-42.
 110. Singh, A.P., Chaudhary, B.R. (2011.): Allelopathic potential of algal weed *Pithophora oedogonia* (Mont.) Wittrock on the germination and seedling growth of *Oryza sativa* L. Botany Research International, 4(2): 36-40.
 111. Sunar, S., Agar, G. (2017.): Effect of *Convolvulus arvensis* L. extracts on the phytohormones and cytological processes of *Zea mays* L. seeds. European Journal of Experimental Biology, 7(3):15.
 112. Takemura, T., Sakuno, E., Kamo, T., Hiradate, S., Fujii, Y. (2013.): Screening of the growth-inhibitory effects of 168 plant species against lettuce. American Journal of Plant Sciences, 4: 1095-1104.
 113. Tanveer, A., Rehman, A., Javaid, M.M., Abbas, R.N., Sibtain, M., Ahmad, A.U.H., Ibin-I-Zamir, M.S., Chaudhary, K.M., Aziz, A. (2010.): Allelopathic potential of *Euphorbia helioscopia* L. against wheat (*Triticum aestivum* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medic.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 34: 75-81.
 114. Taxeira da Silva, J., Karimi, J., Mohsenzadeh, S., Dobranszki, J. (2015.): Allelopathic potential of select gymnospermous trees. Journal of Forest and Environmental Science, 31(2): 109-118.
 115. Treber, I., Baličević, R., Ravlić, M. (2015.): Assessment of allelopathic effect of pale persicaria on two soybean cultivars. Herbologia, 15(1): 31-38.
 116. Verma, M., Rao, P.B. (2006.): Allelopathic effect of four weed species extracts on germination, growth and protein in different varieties of *Glycine max* (L.) Merrill. Journal of Environmental Biology, 27(3): 571-577.
 117. Wardle, D.A., Ahmed, M., Nicholson, K.S. (1991.): Allelopathic influence of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) seeds on germination and radicle growth

- of pasture plants. New Zealand Journal of Agricultural Research, 34(2): 185-191.
118. Waris, A., Waris, L., Khan, M.A., Shad, A.A. (2016.): Allelopathic effect of methanol and water extracts of *Camellia sinensis* L. on seed germination and growth of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. Journal of Bioresource Management, 3(1): 1-11.
 119. Weidenhamer, J.D. (2008.) Allelopathic mechanisms and experimental methodology. U: Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry. Springer, New York, NY. 412.
 120. Weidenhamer, J.D., Hartnett, D.C., Romeo, J.T. (1989.): Density-dependent phytotoxicity, Distinguishing resource competition and allelopathic interference in plants. Journal of Applied Ecology, 26: 613–624.
 121. Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., Haig, T. (1999.): Identification and evaluation of toxicity of rice root elongation inhibitors in flooded soils with added wheat straw. Soil Science and Plant Nutrition, 36: 97-103.
 122. Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., Haig, T. (2000.): Laboratory screening for allelopathic potential of wheat (*Triticum aestivum*) accessions against annual ryegrass (*Lolium rigidum*). Australian Journal of Agricultural Research, 51 : 259-266.
 123. Wu, H., Pratley, J., Lemerle, D., Haig, T., An, M. (2001.): Screening methods for the evaluation of crop allelopathic potential. The Botanical Review, 67(3): 403-415.
 124. Zhang, K.-M., Shi, L., Li, Z.-Y. (2004.): Fern allelopathy and its impact on biodiversity. Biodiversity Science, 12(4): 466-471.

7. Sažetak

Alelopatija predstavlja složen biološki fenomen međusobnog djelovanja među vrstama, pozitivan ili negativan, pod sredstvom kemijskih spojeva koji se izlučuju u okoliš. Alelopatske interakcije odvijaju se u prirodnim sustavima, ali i agroekosustavima među usjevima i korovima. Procjena alelopatskog utjecaja moguća je brojnim metodama, u kontroliranim uvjetima na umjetnim podlogama i u tlu, te u polju. Najčešće se u pokusima istražuje utjecaj vodenih ekstrakata, te korijenovih eksudata na filter papiru i agru. Svaka metoda ima brojne prednosti, ali i nedostatke, te je za pouzdane rezultate optimalno provesti testove koristeći više različitih metoda.

Ključne riječi: alelopatija, alelokemikalije, korov, usjev, vodeni ekstrakti, korijenovi eksudati, laboratorijski pokusi, poljski pokusi

8. Summary

Allelopathy represents a complex biological phenomenon of interaction between species, positive or negative, by the secretion of chemical compounds into the environment. Allelopathic interactions occur in natural systems, but also in agroecosystems between crops and weeds. The evaluation of allelopathic effect is possible by numerous methods, under controlled conditions on artificial substrates and in soil, and in the field. The effect of water extracts is most commonly investigated, as well as root exudates on filter paper and agar. Each method has numerous advantages and disadvantages, and for reliable results it is optimal to run tests using a variety of methods.

Key words: allelopathy, allelochemicals, weeds, crops, water extracts, root exudates, laboratory experiments, field trials

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Biljna proizvodnja

Diplomski rad

Metode istraživanja alelopatskog utjecaja

Ana Peharda

Sažetak

Alelopatija predstavlja složen biološki fenomen međusobnog djelovanja među vrstama, pozitivan ili negativan, posredstvom kemijskih spojeva koji se izlučuju u okoliš. Alelopatske interakcije odvijaju se u prirodnim sustavima, ali i agroekosustavima među usjevima i korovima. Procjena alelopatskog utjecaja moguća je brojnim metodama, u kontroliranim uvjetima na umjetnim podlogama i u tlu, te u polju. Najčešće se u pokusima istražuje utjecaj vodenih ekstrakata, te korijenovih eksudata na filter papiru i agru. Svaka metoda ima brojne prednosti, ali i nedostatke, te je za pouzdane rezultate optimalno provesti testove koristeći više različitih metoda.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Renata Baličević

Broj stranica: 42

Broj grafikona i slika: 3

Broj tablica: -

Broj literaturnih navoda: 124

Broj priloga: -

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: alelopatija, alelokemikalije, korov, usjev, vodeni ekstrakti, korijenovi eksudati, laboratorijski pokusi, poljski pokusi

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. dr. sc. Marija Ravlić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Renata Baličević, mentor
3. izv. prof. dr. sc. Anita Liška, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agriculture

University Graduate Studies Plant Production, Course Plant Production

Methods of research of alelopathic influence

Ana Peharda

Abstract

Allelopathy represents a complex biological phenomenon of interaction between species, positive or negative, by the secretion of chemical compounds into the environment. Allelopathic interactions occur in natural systems, but also in agroecosystems between crops and weeds. The evaluation of allelopathic effect is possible by numerous methods, under controlled conditions on artificial substrates and in soil, and in the field. The effect of water extracts is most commonly investigated, as well as root exudates on filter paper and agar. Each method has numerous advantages and disadvantages, and for reliable results it is optimal to run tests using a variety of methods.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: PhD Renata Baličević, Associate Professor

Number of pages: 42

Number of figures: 3

Number of tables: -

Number of references: 124

Number of appendices: -

Original in: Croatian

Key words: allelopathy, allelochemicals, weeds, crops, water extracts, root exudates, laboratory experiments, field trials

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. PhD Marija Ravlić, chair
2. PhD Renata Baličević, Associate Professor, mentor
3. PhD Anita Liška, Associate Professor, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek